



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102935069 A

(43) 申请公布日 2013. 02. 20

(21) 申请号 201210469150. 8

A61K 47/34 (2006. 01)

(22) 申请日 2004. 07. 15

A61K 47/42 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/487, 663 2003. 07. 15 US

(62) 分案原申请数据

200480026606. 7 2004. 07. 15

(71) 申请人 PR 药品有限公司

地址 美国科罗拉多

(72) 发明人 P·库克·盖瑞

(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

(51) Int. Cl.

A61K 9/14 (2006. 01)

A61K 47/12 (2006. 01)

A61K 47/20 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 22 页

(54) 发明名称

控释组合物的制备方法

(57) 摘要

此处公开的方法用于制备控释组合物。具体而言, 本方法提供将包含生物活性剂和聚合物的有机相与包含有机离子的水相的接触以制备包含生物活性剂的控释组合物。本发明还包括包含聚合物、有机离子以及生物活性剂的控释组合物。本发明还包括使用这种控释组合物的方法。本发明的有效性在于该方法可用于制备包含生物活性剂的控释组合物, 该组合物能够采用浓缩低剂量形式给药、具有低突释率并且生物活性剂的降解产物减少。

1. 一种制备控释组合物的方法,其包括:将包含生物活性剂和聚合物的有机相与包含有机离子的水相结合,其中所述有机离子存在于水相中以减少所述生物活性剂的降解,并且其中所述有机离子选自三氟甲基-对-甲基苯甲酸根、2-萘磺酸根、2,3-萘二甲酸根、1-羟基-2-萘甲酸根、2-萘甲酸根以及水杨酰水杨酸根;并回收所述组合物以制备控释组合物。

2. 如权利要求1所述的方法,其中所述有机离子的最终浓度范围为0.1至1000mM。

3. 如权利要求1所述的方法,其中所述有机相包含选自以下组中的溶剂:二氯甲烷、乙酸乙酯、苯甲醇、丙酮、乙酸以及碳酸丙烯酯。

4. 如权利要求3所述的方法,其中在所述有机相中进一步包含共溶剂。

5. 如权利要求4所述的方法,其中所述共溶剂选自以下组中:二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、n-甲基吡咯烷酮、PEG200、PEG400、甲醇、乙醇、异丙醇以及苯甲醇。

6. 如权利要求1所述的方法,其中在水相中进一步包含乳化剂。

7. 如权利要求6所述的方法,其中所述乳化剂选自以下组中:聚乙烯醇、白蛋白、卵磷脂维生素E-TPGS以及聚山梨醇酯。

8. 如权利要求6所述的方法,其中所述乳化剂的最终浓度范围为0.1至10重量%。

9. 如权利要求1所述的方法,其中所述控释组合物选自微粒和纳米粒。

10. 如权利要求9所述的方法,其中所述微粒和纳米粒是可生物降解的。

11. 如权利要求1所述的方法,其中所述聚合物选自以下组中:聚丙交酯、聚乙交酯、聚丙交酯-共-乙交酯、聚乳酸、聚羟基乙酸、聚乳酸-共-羟基乙酸、聚己内酯、聚碳酸酯、聚酯酰胺、聚酸酐、聚氨基酸、聚原酸酯、聚乙酰、聚氰基丙烯酸酯、聚醚酯、聚二氧杂环己酮、聚亚烷基烷基化物、聚乙二醇和聚原酸酯的共聚物、可生物降解的聚氨基甲酸酯、它们的混合物以及共聚物。

12. 如权利要求1所述的方法,其中所述生物活性剂选自以下组中:蛋白质、核酸、糖类、肽、LHRH激动剂及其合成类似物、亮丙瑞林、催产素、促生长素抑制素及其合成类似物、小分子药物、免疫原、能促进细胞和组织生长和存活的代谢前体、抗肿瘤药物、激素、抗组胺剂、心血管药物、抗溃疡药物、支气管扩张剂、血管扩张剂、中枢神经系统药物以及麻醉剂拮抗药。

13. 如权利要求12所述的方法,其中所述蛋白质或所述肽选自以下组中:奥曲肽、催产素、胰岛素、亮丙瑞林、以及其合成变体。

14. 如权利要求1所述的方法,其中所述有机相和水相是利用乳化方法相结合。

15. 如权利要求14所述的方法,其中所述乳化方法选自水包油和水包油包水。

16. 一种由权利要求1所述的方法制备的控释组合物。

17. 如权利要求1所述的方法,其中所述控释组合物包括有机离子-生物活性剂复合物。

控释组合物的制备方法

[0001] 本申请是 2004 年 7 月 15 日提交的发明名称为“控释组合物的制备方法”的第 200480026606.7 号中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及制备控释组合物的方法；以及，具体而言涉及通过乳化方法使包含生物活性剂和聚合物的有机溶液与包含有机离子的含水溶液相接触以产生控释组合物的方法。本发明进一步提供包含聚合物、有机离子和生物活性剂的控释组合物的使用方法。

背景技术

[0003] 目前市场上有多种包含各种生物活性剂如 GnRH 类似物、人类生长激素、利培酮 (risperidone) 和促生长素抑制素类似物例如醋酸奥曲肽 (octreotide acetate) 的控释组合物。这些控释组合物代表性的是由可生物降解、生物相容性的聚合物配制而成。这种组合物由于减少了多次注射的需要而成为卫生保健工作者及其患者的首选。此外，由于一次注射可对患者具有较长时间的治疗作用，因此卫生保健机构首选它们是因为其可减少患者就诊的次数，这有利于减少卫生保健的费用。

[0004] 不幸的是，当前控释组合物的生产方法与配制中存在许多问题。当前许多制备方法不适于生产载药量高的浓缩制品，从而不得不采用大体积的肌肉内注射 (2mL)，而这在给药时令患者极不舒服。此外，许多方法在包封之前需要费时且复杂的过程以增溶生物活性剂；并且为包封而进行的增溶操作可导致有害的释放性质，以及生物活性剂自身的降解。例如，使用更高水溶性的生物活性剂例如在向患者给药或被引入生理介质中与含水溶液相接触后，常常导致不良的生物活性剂的“突释”。这种生物活性剂水平的急剧升高会对患者有害并且仅剩余少量的生物活性剂在所需的治疗时间中用于以后的释放。

[0005] 曾尝试过各种各样的方法以解决溶解度问题，但未曾有特别有效或有用的方法。一种尝试是将生物活性剂与包含阴离子头部和疏水性尾部的表面活性剂分子相结合，以在包封之前增加生物活性剂在有机相中的溶解度。另一种方法是将有机酸与生物活性剂相结合以在包封之前生成水不溶性的加成盐。水不溶性加成盐的使用在给药时能减少“突释”效应；然而，这种方法要求额外的生产过程从而使得这些化合物的制备昂贵且低效。另一种方法包括对生物活性剂的醋酸盐进行包封从而使大量的化学修饰或降解的生物活性剂在被置于含水的生理缓冲盐中后释放出来。化学降解是采用不理想的生物活性剂酰化的形式进行的。

[0006] 非常需要能够生成具有载药量高、给药时突释效应很小且生物活性剂的降解很少的产品的控释组合物制备方法，以实现这些种类的组合物作为人类或兽医治疗法的真正益处。

发明内容

[0007] 根据此处具体描述且概描的本发明目的，一方面，本发明涉及制备及使用控释组

合物的方法。

[0008] 在一个具体实施方案中,该方法包括以下步骤:在有机相中将生物活性剂与聚合物相结合;将有机离子结合入水相中;并使所得有机相和水相接触以产生控释组合物。

[0009] 在某一具体实施方案中,该方法包括以下步骤:在有机相中将生物活性剂与聚合物结合;将有机离子结合入水相中;并将所得有机相和水相经乳化过程以产生控释组合物。

[0010] 在某一具体实施方案中,该方法包括使包含聚合物与生物活性剂的有机相与包含有机离子的水相接触,其中有效量的有机离子离开水相而进入有机相。

[0011] 在一个具体实施方案中,该有机相包含一种选自但不限于二氯甲烷、乙酸乙酯、苯甲醇、丙酮、乙酸以及碳酸丙烯酯的溶剂。

[0012] 在一个特定的具体实施方案中,该有机相还包含一种共溶剂。该共溶剂可以选自但不限于二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、n-甲基吡咯烷酮、PEG₂₀₀、PEG₄₀₀、甲醇、乙醇、异丙醇以及苯甲醇。

[0013] 在另一具体实施方案中,该水相还包含乳化剂。该乳化剂可以选自但不限于聚(乙烯醇)、白蛋白、卵磷脂、维生素 E-D- α -生育酚-聚乙二醇(TPGS)以及聚山梨醇酯。在一个特定的具体实施方案中,该乳化剂存在的最终浓度范围可为约 0.1 至 10 重量 %。

[0014] 在某一具体实施方案中,该有机离子的最终浓度在约 0.1 至 1000mM 的范围。

[0015] 在某一具体实施方案中,该控释组合物选自但不限于微粒和纳米粒。在一个特定的具体实施方案中,该微粒和纳米粒为可生物降解的。

[0016] 在另一具体实施方案中,该聚合物可以选自但不限于以下组中:聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚(乳酸)、聚(羟基乙酸)、聚(乳酸-共-羟基乙酸)、聚己内酯、聚碳酸酯、聚酯酰胺、聚酸酐、聚(氨基酸)、聚原酸酯、聚乙酰(polyacetyls)、聚氰基丙烯酸酯、聚醚酯、聚(二氧杂环己酮)、聚(亚烷基烷基化物)(poly(alkylene alkylates))、聚乙二醇和聚(丙交酯-共-乙交酯)的共聚物、可生物降解的聚氨基甲酸酯、它们的混合物及共聚物。

[0017] 在另一具体实施方案中,该生物活性剂可以选自但不限于以下组中:蛋白质、核酸、肽、小分子药物、免疫原、能促进细胞和组织生长和存活的代谢前体、抗肿瘤药物、激素、抗组胺剂、心血管药物、抗溃疡药物、支气管扩张剂、血管扩张剂、中枢神经系统药物、麻醉剂拮抗药等。

[0018] 在某一具体实施方案中,该乳化方法选自水包油以及水包油包水。

[0019] 在一个特定的具体实施方案中,本发明的方法可通过任何已知的乳 化方法来实施。

[0020] 在一个特定的具体实施方案中,该有机离子选自阴离子和阳离子物质。在一个特定的具体实施方案中,该有机离子选自双羧基羧酸根、三氟甲基-对-甲基苯甲酸根、胆酸根、2-萘磺酸根、2,3-萘二甲酸根、1-羟基-2-萘甲酸根、3-羟基-2-萘甲酸根、2-萘甲酸根以及水杨酰水杨酸根。

[0021] 在另一具体实施方案中,降解包括酰化。在一个特定的具体实施方案中,该酰化反应包括生物活性剂的氨基直接亲核进攻聚酯如聚(d, l-丙交酯-共-乙交酯)的羰基碳。据猜测,本组合物中该生物活性剂是通过促进潜在的亲核体(如氨基)的质子化来防止或减少

降解,从而导致亲核体较不易于参与同 PLGA 聚合物骨架或其片段的酰化反应。

[0022] 在另一具体实施方案中,降解包括聚合物的溶解(lysis)。过量溶解可能导致聚合物分子量的快速丢失以及生物活性剂的过早释放。

[0023] 在另一具体实施方案中,相对于有机离子,该生物活性剂的摩尔化学计量范围为约 0.5 至 2.0。在一个特定的具体实施方案中,相对于有机离子,该生物活性剂的摩尔化学计量范围为约 1.0 至 1.5。

[0024] 在另一具体实施方案中,本发明提供一种控释组合物,其包含聚合物以及与有机离子组成复合物形式的生物活性剂。当有机离子和生物活性剂形成紧密物理结合时即可形成该复合物。

[0025] 在另一具体实施方案中,该生物活性剂含量相对于根据本发明方法在不含有机离子时制备的组合物生物活性剂含量可有所提高。

[0026] 在另一具体实施方案中,本发明包括一种将生物活性剂与有机相结合;将聚合物与同一有机相结合;将有机离子与水相结合;以及通过利用乳化方法使所述有机相与所述水相接触的方法,以用于生成包封形式的生物活性剂。

[0027] 本发明的其它优点将在下列的说明书中部分列出,并且部分将可由说明书明显得出,或者将可通过本发明的实施而学到。根据所附权利要求书中具体指出的要素及组合将认识并实现本发明的优点。应理解前述的概述以及以下的详述都只是示例性和解释性,而并非对如权利要求书所要求的本发明的限制。

具体实施方式

[0028] 定义

[0029] 为本发明目的,下列术语应具有以下含义:

[0030] 为本发明目的,术语“可生物降解的”是指聚合物在特定治疗环境可接受的一段时期内于体内溶解或降解。这种溶解或降解的产品可能包括更小的化学物种。可通过如酶促、化学和/或物理方法导致降解。在暴露于生理 pH 和温度如 pH 范围为 6 至 9 且温度范围为 22℃至 38℃后,生物降解典型地需消耗少于五年,通常少于 1 年。

[0031] 为本发明目的,术语“有机相”和“非连续相”可以互换并且是指本发明方法中建立的溶剂、聚合物以及生物活性剂的溶液,之后它将通过乳化方法与水相接触以生成本发明的控释组合物。

[0032] 为本发明目的,术语“降解”是指对生物活性剂的任何不需要的修饰,如酰化,或对聚合物的修饰,如溶解。

[0033] 为本发明目的,术语“水相”和“连续相”可以互换并且是指本发明方法中建立的水与有机离子剂的溶液,之后它将通过乳化方法与有机相接触以用于生成本发明的控释组合物。

[0034] 为本发明目的,术语“结合”是指任何将两种或更多种物质置于一起的方法。这种方法包括但不限于搅拌、掺和、混合、调合、均质化、掺入、掺混、熔合、接合、掺杂、搅动、合并、结合、混淆、接合、组合等。

[0035] 为本发明目的,范围在此处可表示为从“大约”或“近似地”某一特定值,和/或到“大约”或“近似地”另一特定值。当表示这种范围时,另一具体实施方案包括从该特定值

和 / 或到另一特定值。类似地,当利用修饰语(antecedent)“大约”将数值表示为近似值时,应理解为该特定值形成另一具体实施方案。还应进一步理解为各范围的端点不但关于另一端点具有重要意义而且独立于另一端点具有重要意义。

[0036] 为本发明目的,术语“生物活性剂”是指在体内或在体外具有生物活性的任何物质,其中生物活性可以作为全身健康状况或者至少一种健康标记(即,症状)的可见变化、作为相关的替代生物学标记的变化、或者作为化学结构或生理相关分子的构型的变化而被检测到。

[0037] 为本发明目的,术语“有机离子”是指阳离子或阴离子物质。有机离子可以其盐或酸的形式存在。示例性的有机离子包括双羟萘酸根、萘甲酸根、胆酸根等。

[0038] 为本发明目的,“控释组合物”应该是指与自然的生物活性剂相比具有不同的释放性质的任何组合物。典型的释放性质将包括在至少一周、至少一月、至少 45 天、或者长于 45 天的一段时间内的生物活性剂的生理学可检测的浓度。

[0039] 此外,为本发明目的,术语“一个”(a、an)实体是指一个或更多个实体;如“一种蛋白质”或“一种肽”是指一种或多种那些化合物或者至少一种化合物。同样地,术语“一”、“一个或更多个”以及“至少一个”在此处可以互相替换使用。还应注意的是,术语“包含”、“包括”以及“含有”可以互相替换使用。而且,化合物“选自以下组中”(或选自)是指下面列出的一种或更多种化合物,包括两种或更多种化合物的混合物(即,组合)。根据本发明,一种分离的或生物学纯的生物活性剂是指已从天然环境中分离出来的化合物。同样地,“分离的”和“生物学纯的”不必反映化合物被纯化的程度。本发明分离的化合物可以从其天然来源中获得、可以利用分子生物学技术制备、或者可以通过化学合成来制备。

[0040] 以下将对本发明的某些具体实施方案加以详细的说明,其实施例将结合实施例部分详细阐述。

[0041] 此处所公开的是用于制备本发明控释组合物的成分。这些和其它物质在此处公开,并应理解为当公开这些物质的组合、子集、相互作用、组等但可能并未明确具体提及这些化合物的各种单独的以及共同的置换时,这些置换已于此处分别加以具体描述并涵盖。例如,如果已公开并讨论许多生物活性剂,并且讨论了对许多分子包括生物活性剂可以进行许多修饰,除非另有说明,则应理解为具体涵盖了生物活性剂的各种以及所有的组合和置换以及可能的修饰。这样,如果公开了一类分子 A、B、与 C 以及一类分子 D、E、和 F 以及组合分子的实例 A-D,那么即使如果并未分别提及,但仍应认为已公开 A-E、A-F、B-D、B-E、B-F、C-D、C-E 和 C-F,它们单独地以及共同地被认为都是所指的组合。同样地,还公开了它们的任何子集或组合。这样,应认为已公开例如 A-E、B-F 和 C-E 的亚组。这种观念应用到本说明书的各个方面,包括但不限于制备及使用本发明的方法中的各个步骤。

[0042] 生物活性剂

[0043] 在本发明的一个具体实施方案中,所述生物活性剂选自蛋白质、核酸、糖类、肽以及小分子药物。本发明使用的蛋白质包括但不限于抗体、治疗性蛋白质、人类生长激素、胰岛素、催产素、奥曲肽、促性腺素释放激素、亮丙瑞林(leuprolide)、干扰素 α 、干扰素 β 、干扰素 γ 、胰岛素、降血钙素、白细胞介素 -1、白细胞介素 -2 等。本发明使用的核酸包括 DNA、RNA、化学修饰的 DNA 以及化学修饰的 RNA、适体、反义核酸、RNA 干扰、以及小 RNA 干扰。糖类包括肝素、低分子量肝素等。肽包括 LHRH 激动剂以及合成的类似物、亮丙瑞林、促

生长素抑制素类似物、激素、奥曲肽、胰高血糖素样肽、催产素等。小分子药物包括但不限于抗感染药、细胞毒素、抗高血压药物、抗真菌药物、抗精神病药、抗糖尿病药、免疫刺激物、免疫抑制剂、抗生素、抗病毒药、抗惊厥药、抗组胺剂、心血管药物、抗凝血剂、激素、抗疟药、止痛剂、麻醉剂、甾体、非甾体抗炎药、止吐药。

[0044] 在另一具体实施方案中,该生物活性剂为免疫原。该免疫原可以选自但不限于用于刺激抗肝炎、抗流感、抗麻疹、抗风疹、抗破伤风、抗小儿麻痹症、抗狂犬病等的抗体的免疫原。

[0045] 在另一具体实施方案中,该生物活性剂是能够促进细胞或组织生长和存活或增强细胞功能的物质或代谢前体。这种物质或代谢前体可以选自但不限于神经生长促进物质如神经节苷脂、神经生长因子等;硬或软组织生长促进剂如纤连蛋白、人类生长激素、集落刺激因子、骨形态发生蛋白、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor)、胰岛素衍生生长因子、转化生长因子- α 、转化生长因子- β 、表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、白细胞介素-1、血管内皮生长因子、角质形成细胞生长因子、骨粉物质(dried bone material)等。

[0046] 在另一具体实施方案中,该生物活性剂为抗肿瘤药物。在一个特定的具体实施方案中,该抗肿瘤药物选自但不限于甲氨喋呤、5-氟尿嘧啶、阿霉素(adriamycin)、长春碱、顺铂、结合至毒素的肿瘤特异性抗体、肿瘤坏死因子等。

[0047] 在其它具体实施方案中,该生物活性剂选自但不限于抗组胺剂如苯海拉明等;心血管药物如罂粟碱(papaverine)、链激酶等;抗溃疡药物如异丙碘铵等;支气管扩张剂如metaproterenol sulfate、氨茶碱等;血管扩张剂如茶碱、烟酸、米诺地尔等;中枢神经系统药物如安定药、 β -肾上腺素能阻滞剂、多巴胺等;抗精神病药如利培酮;麻醉剂拮抗药如纳曲酮、纳洛酮、丁丙诺啡;以及其它类似物质。

[0048] 在某一具体实施方案中,该生物活性剂在其所施用的生物系统中能够提供局部或全身生物学、生理学或治疗作用。例如,该物质可以用于控制感染或炎症、改善细胞生长和组织再生、控制肿瘤生长和提高骨生长、以及其它功能。

[0049] 在另一具体实施方案中,控释组合物可以包含两种或更多种生物活性剂的组合。在一个特定的具体实施方案中,控释组合物包含五种或更少的生物活性剂。在另一具体实施方案中,控释组合物包含一种生物活性剂。

[0050] 在一个特定的具体实施方案中,该生物活性剂是与有机离子的复合物形式。

[0051] 在另一具体实施方案中,本发明的生物活性剂可包含各种盐形式以及包括共价结合到亲水性聚合物如聚(乙二醇)和聚(丙二醇)上的衍生物。

[0052] 本发明包括生物活性剂的药学等价物。药学等价物在体外表现出类似于或高于生物活性剂本身的活性。在一个特定的实例中,药学等价物可以具有与生物活性剂相似的化学结构,它仅仅包含生物活性剂的生物活性部分或者是生物活性剂的合成类似物。

[0053] 在一个特定的具体实施方案中,该生物活性剂可表现至少一个正电荷或负电荷或者同时表现正电荷和负电荷。

[0054] 在一个特定的具体实施方案中,该生物活性剂为水溶性的。

[0055] 在另一特定的具体实施方案中,该生物活性剂溶于任选地包含一种共溶剂的有机溶剂中。该生物活性剂可以溶于水或有机溶剂或者可溶于该两者。

[0056] 本领域技术人员应意识到在特定的情况下所利用的生物活性剂的实际剂量将根据所利用的特定化合物、所配制的特定组合物、施用方法、以及所治疗的特定部位和患者的不同而改变。对给定患者的剂量可以利用常规考虑因素来确定,例如通过适当的常规药理学方案对目标化合物与已知的生物活性剂的不同活性的常规比较。确定药物化合物剂量领域的医师和配方设计师将很容易根据标准推荐来确定剂量。

[0057] 有机离子

[0058] 本发明使用的有机离子包括阴离子和阳离子物质。阴离子物质包括但不限于下列有机酸及其盐:双羟萘酸、十二烷基硫酸、胆酸、三氟甲基-对-甲基苯甲酸、2-萘磺酸、2,3-萘二甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、3-羟基-2-萘甲酸、2-萘甲酸以及水杨酰水杨酸。此外有机形式的硫酸根、磺酸根、磷酸根、以及膦酸根是合适的有机离子。阴离子物质的盐形式可以包括钠、铵、镁、钙盐等。

[0059] 阳离子分子包括但不限于那些含有铵基或胍基或被取代的铵基的基团。有机阴离子物质与具有一种或更多种含有或者能够接受正电荷如铵基或胍基的官能团的生物活性剂一起使用。有机阳离子物质可以与具有一种或更多种含有或者能够接受负电荷如羧基、硫酸根、磺酸根、磷酸根、或膦酸根的官能团的生物活性剂一起使用。

[0060] 本发明使用的有机离子物质可以提高包封率以及载药量所需的程度溶于水并有机相中。在一个特定的具体实施方案中,提高包封率和载药量可以通过减少生物活性剂的降解来实现。在一个特定的具体实施方案中,有机离子物质在水相中的浓度范围为约 0.5 至 100mM。在另一特定的具体实施方案中,该有机离子为约 5 至 40mM。

[0061] 可生物降解的微粒

[0062] 在某一具体实施方案中,该控释组合物为微粒。

[0063] 在某一具体实施方案中,生物活性剂以微粒形式与可生物降解的聚合物结合。在一个特定的具体实施方案中,微粒具有低于 1.0mm 的直径并且代表性地介于 1.0 至 200.0 微米之间。微粒包括微球和微囊两者,并且可以近似为球形或者具有其它几何形状。微球代表性地组成上近似均一而微囊包含组成不同于周围的外壳的核。为本公开的目的,术语微球、微粒和微囊可相互替换使用。

[0064] 在某些具体实施方案中,微粒可由各种不同的可生物降解的聚合物制备。适当的生物相容性、可生物降解的聚合物包括如聚(丙交酯)、聚(乙交酯)、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚(乳酸)、聚(乙醇酸)、聚(乳酸-共-乙醇酸)、聚己内酯、聚碳酸酯、聚酯酰胺、聚酸酐、聚(氨基酸)、聚原酸酯、聚乙醚、聚氰基丙烯酸酯、聚醚酯、聚(二氧杂环己酮)、聚(亚烷基烷基化物)、聚乙二醇与聚(丙交酯)或者聚(丙交酯-共-乙交酯)的共聚物、可生物降解的聚氨基甲酸酯、它们的混合物以及共聚物。

[0065] 在一个特定的具体实施方案中,该微粒是由聚(d, l-丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)制备。当暴露于生理 pH 状态时 PLGA 降解并水解形成乳酸和乙醇酸,它们是细胞代谢的正常副产物。PLGA 聚合物的分解速率取决于聚合物分子量、聚合物链中丙交酯与乙交酯单体的比例、以及单体亚单位的立构规整性。破坏聚合物结晶性的 L 与 D 立体异构体的混合物将提高聚合物的分解速率。此外,微球可以包含两种或更多种不同分子量和/或不同单体比例的可生物降解聚合物的混合物。

[0066] 在其它可选择的具体实施方案中,包括连接到 PLGA 的亲水性聚合物的衍生化的

可生物降解聚合物可以用于制备微球。在特定的具体实施方案中,该亲水性聚合物选自但不限于聚(乙二醇)、聚(丙二醇)、以及聚(乙二醇)和聚(丙二醇)的共聚物。

[0067] 可生物降解的纳米粒

[0068] 在某些具体实施方案中,所述控释组合物为纳米粒。

[0069] 在某些具体实施方案中,连接或不连接亲水性聚合物的生物活性剂与用于控制生物活性剂释放的可生物降解的亚微颗粒结合。纳米粒的直径范围为 20.0 纳米至约 2.0 微米,并且代表性地介于 100.0 纳米与 1.0 微米之间。

[0070] 纳米粒可以采用与微粒相同的方式制备,但利用高速混合或匀化以将聚合物/生物活性剂乳滴的大小降低至低于 2.0 微米并且代表性地低于 1.0 微米。制备纳米粒的其它方法为本领域所熟知并且可以用于本发明。

[0071] 控释组合物的生产

[0072] 在一个具体实施方案中,包含一种或更多种溶剂、生物活性剂以及聚合物的有机相与包含有机离子的水相接触。在一个特定的具体实施方案中,所述有机相还包含共溶剂。在另一特定具体实施方案中,水相还包含乳化剂。在另一特定具体实施方案中,该有机离子为有机酸的盐。

[0073] 在另一具体实施方案中,该有机相与水相接触形成乳液,其中该乳液包括分散于水相中的有机相小液滴。随后从乳液小液滴中将溶剂除去以形成硬化的微粒。在一个特定的具体实施方案中,溶剂是通过蒸发除去。在另一特定具体实施方案中,溶剂是通过萃取至萃取液中而除去;例如,该萃取液可以为水。在另一特定具体实施方案中,溶剂是通过过滤来除去。之后,可以从水相中回收硬化的微粒并干燥。

[0074] 在另一具体实施方案中,该乳液是通过搅拌有机相和水相获得。在另一具体实施方案中,该乳液是通过使用搅拌器来制备。在一个特定的具体实施方案中,该搅拌器为静态搅拌器。在某一具体实施方案中,该乳液是通过湍流混合来制备。在另一具体实施方案中,该乳液未通过湍流混合而制备。

[0075] 所述乳化方法可以在介于组分的沸点和凝固点之间的任何温度下实施。在一个具体实施方案中,该温度范围为约 0°C 至 100°C 并且典型地为 5°C 至 75°C 之间。在一个特定的具体实施方案中,该乳化方法是在约 15°C 至约 60°C 之间实施。

[0076] 本发明的有机相可以包含但不限于以下溶剂:二氯甲烷、乙酸乙酯、苯甲醇、丙酮、乙酸、碳酸丙烯酯以及其它可生物降解的聚合物可溶于其中的溶剂。在一个特定的具体实施方案中,该有机相的溶剂可以选自乙酸乙酯和二氯甲烷。

[0077] 在一个特定的具体实施方案中,水相可以包括水和乳化剂。

[0078] 在某一具体实施方案中,可将共溶剂加入到有机相中。它们可以任选地使用以提高生物活性剂在有机相中的溶解度。在一个特定的具体实施方案中,它们可以选自但不限于二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、n-甲基吡咯烷酮、PEG200、PEG400、甲醇、乙醇、异丙醇、以及苯甲醇。在另一特定具体实施方案中,该共溶剂可以有有机相溶剂的 0 至 90% 重量比的量存在。在另一特定具体实施方案中,该共溶剂为有机相溶剂的 0 至 50% 重量比。该生物活性剂可以首先溶于适当体积的溶剂中,之后将其加入至任选地溶有可生物降解聚合物的有机相溶剂中,从而形成有机相所有组分的溶液。本领域普通技术人员可调节各组分的体积及加入的顺序以获得所需要的生物活性剂和可生物降解聚合物的溶液。在某一具体实施方案

中,该生物活性剂将以 1-20 重量%的浓度存在于有机相中。在一个特定的具体实施方案中,该可生物降解聚合物将以 2-40 重量%的浓度存在于有机相中。在另一特定的具体实施方案中,该可生物降解聚合物将以 5-20 重量%的浓度存在于有机相中。

[0079] 有机离子被溶于水相中。在某一具体实施方案中,它们以约 0.1mM 至约 1000mM 的浓度溶解。在一个特定的具体实施方案中,它们以约 1 mM 至约 100mM 的浓度溶解。可以根据各特殊的有机离子物质以及生物活性剂调节该浓度以获得所需的载药量及包封率。

[0080] 可以向水相中加入一种或更多种乳化剂以稳定乳液。乳化剂可以选自但不限于聚(乙烯醇)、白蛋白、卵磷脂、维生素 E TPGS 以及聚山梨醇酯。该乳化剂在水相中存在的浓度为 0 至 10 重量%。在一个特定的具体实施方案中,它们存在的浓度为 0.5 至 5 重量%。

[0081] 本发明的有机离子包括但不限于下列有机酸及其盐:双羧萘酸、十二烷基硫酸、胆酸、三氟甲基-对-甲基苯甲酸、2-萘磺酸、2,3-萘二甲酸、1-羟基-2-萘甲酸、3-羟基-2-萘甲酸、2-萘甲酸、以及水杨酰水杨酸或硫酸盐、磺酸盐、磷酸盐、以及膦酸盐的有机衍生物。

[0082] 药物剂型

[0083] 除配制为非胃肠道给药如静脉内或肌肉内注射的化合物以外,也可以使用本发明的其它可选的给药方法,包括但不限于皮内给药、肺部给药、含服给药、透皮给药、透粘膜给药。透粘膜给药可以包括但不限于眼、阴道、直肠以及鼻内给药。所有这些给药方法为本领域所熟知。

[0084] 在一个特定的具体实施方案中,本发明的控释组合物可以如通过鼻用溶液剂或喷雾剂、气雾剂或吸入剂鼻内给药。鼻用溶液剂为通常设计为以液滴或喷雾形式向鼻腔给药的含水溶液。制备鼻用溶液剂使之在各方面与鼻分泌液类似。这样,含水鼻用溶液剂通常为等渗并稍加缓冲以维持 5.5 至 6.5 的 pH。

[0085] 如果需要,类似于用于眼科制剂的抗菌防腐剂以及适当的药物稳定剂可以包含在所有剂型中。防腐剂和其添加剂可以选自但不限于抗菌剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等。已知各种商业鼻用制剂,它们包括如抗生素与抗组胺剂,并用于预防哮喘。

[0086] 在另一具体实施方案中,本发明的控释组合物用于局部施用。这种控释组合物包括但不限于洗液、软膏、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体制剂以及散剂。常用的药物载体、含水、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必须或有利的。

[0087] 赋形剂、载体以及稀释剂

[0088] 本发明的控释组合物可以在生物系统或实体所能够耐受的任何赋形剂中配制。这种赋形剂的实例包括水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液、Hank's 溶液以及其它含水生理学平衡盐溶液。非水载体也可以使用,如不挥发性油、聚乙二醇以及可注射有机酯如油酸乙酯。其它有用的剂型包括包含增粘剂如羧甲基纤维素钠、山梨醇或右旋糖酐的混悬剂。

[0089] 赋形剂还可以包含少量添加剂,如提高等渗性和化学稳定性的物质。缓冲液的实例包括磷酸缓冲液、碳酸氢盐缓冲液、以及 Tris 缓冲液,而防腐剂的实例包括硫柳汞(thimerosal)、甲酚、福尔马林、苯甲醇。

[0090] 本发明用于控释组合物的药物载体为本领域技术人员所熟知。最常用的那些载体很可能为用于向人类给药的标准载体,包括溶液如无菌水、盐水以及生理 pH 的缓冲溶液。

[0091] 本发明的控释组合物可以混悬在任何含水溶液或者其它用于向需要治疗的人类

或动物患者注射的稀释剂中。含水稀释剂溶液可以进一步包含选自羧甲基纤维素钠、蔗糖、甘露醇、葡萄糖、海藻糖的增粘剂以及其它生物相容性粘度增强剂。粘度可以调节至介于 2 厘泊(cp) 与 100cp 之间,更优选为介于 4 和 40cp 之间。

[0092] 在一个特定的具体实施方案中,在稀释剂中可以包含表面活性剂以提高控释组合物的可悬浮性。表面活性剂可以选自但不限于聚山梨醇酯以及其它生物相容性表面活性剂。表面活性剂使用的浓度为 0 至 5 重量%,优选为 0.1 至 1 重量%。

[0093] 实施例

[0094] 下列实施例是用于阐述本发明的具体实施方案。本领域技术人员应意识到,以下实施例中所公开的技术代表发明者所发现的在本发明实践中作用良好的技术,因此可以认为组成了其实践的特定模式。然而,根据本发明公开的内容,本领域技术人员应意识到,在不偏离本发明的宗旨和范围的情况下,所公开的特定具体实施方案中可以存在许多变化,并且仍然可得到相同或相似的结论。

[0095] 实施例 1

[0096] 根据先前使用的方法使用共溶剂的包封于聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)微粒中的醋酸奥曲肽的常规制法

[0097] 制备醋酸奥曲肽微粒制剂以考察有机相中不同共溶剂的作用。制剂 A-F 是使用水包油型乳液/溶剂萃取技术进行制备,在表 1 中进行总结。将 PLGA 聚合物(50:50 丙交酯/乙交酯, MW 24,000, 180mg)溶于乙酸乙酯(EtOAc, 900 μ L),并将溶于共溶剂(表 1)的醋酸奥曲肽(20mg)加入到该聚合物溶液中。将所得的均一有机相加入至含有 1%聚乙烯醇(PVA)的水相(2mL)中并将该混合物涡旋 15-30 秒。将该乳液倒入溶剂萃取液(10mM 的磷酸钠, pH 8.0, 150mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤分离微粒、用水洗涤并风干过夜。将该制剂以粒径、扫描电子显微镜(SEM)形态学、奥曲肽核载药量及体外释放特征来表征。

[0098] 使用乳化装置再次制备制剂 D,例如在 PCT 申请号 PCT/US04/11485 中所公开的,将由醋酸奥曲肽(20mg)、MeOH (100 μ L)、PLGA 聚合物(50:50 丙交酯/乙交酯, MW 24,000, 180mg)及 EtOAc (1.9mL)的均一有机相(2mL)与 1%PVA 水相(4mL)结合。然后将该乳液加入到溶剂萃取液中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。该方法制备得到制剂 D2 (表 1)。

[0099] 所考察的共溶剂对粒径和核载药量有微小的影响。聚乙二醇(PEG)共溶剂粘度越高,粒径越大。相反,核载药量则与甲醇(MeOH)和 PEG 作为共溶剂(制剂 A-C)相似。使用 pH 8 缓冲乳化步骤并以 MeOH 作为共溶剂以及以二甲基亚砜(DMSO)作为共溶剂(制剂 F)获得了最大的核载药量。

[0100] 体外释放动力学在磷酸盐缓冲盐水(PBS, pH 7.2, 37°C)或 100mM 乙酸钠(NaOAc, pH 4.0, 37°C)中测定。实例如表 2 所示(制剂 D2)。PEG 共溶剂系统具有最高的初始肽突释率(8-10%),而其它制剂的初始突释率范围为 2-3%。尽管相对于其它制剂来说用极性非质子溶剂制备的制剂(制剂 E-F)的相对释放速率有所减小从而引起肽释放总量降低,但所有制剂释放肽至少达 6 周。

[0101] 在释放介质(PBS, pH 7.2, 37°C)中温育 49 天后,通过高效液相测定作为游离肽的醋酸奥曲肽 95%完好。相比之下,在释放介质(PBS, pH 7.2, 37°C, 表 2)中温育 70 天之后,醋酸奥曲肽 PLGA 微粒制剂生成 55%的改性的肽。HPLC 分析显示新的肽实体比天然的醋酸

奥曲肽更疏水。HPLC/MS 分析显示质量与 PLGA 聚合物对母体肽的酰化一致。所检测的质量与随机酰化相一致,例如,肽加上一个或两个乙醇酸或乳酸单体的任意组合。酰化产物可能产生于奥曲肽中的亲核部分对 PLGA 片段或聚合物骨架的进攻。在较低 pH 时,这些部分可能被质子化而减少其亲核性,进而减少酰化产物的量。据观察,在 100mM 乙酸钠(NaOAc, pH 4.0)缓冲液中温育的醋酸奥曲肽 PLGA 微粒的酰化副产物的形成在 49 天时降低到 1.25%,这与 PBS 缓冲液所得结果(55%)形成鲜明对比。

[0102] 表 1. PLGA 微粒包封的醋酸奥曲肽胶囊

[0103]

	有机相共溶剂	水相成分	中值粒径	核载药量 (包封率)	突释率 (%)	肽释放总量 (酰化)
A	PEG ₂₀₀ (100 μL)	1%PVA	49 μm	2.83% (28%)	7.96	72.6% (44%)
B	PEG ₄₀₀ (100 μL)	1%PVA	76 μm	3.20% (32%)	10.4	63.0% (48%)
C	MeOH (50 μL)	1%PVA	25 μm	2.75% (28%)	2.91	65.7% (50%)
D	MeOH (100 μL)	1%PVA+ 10mM PO ₄ (pH8)	34 μm	5.57% (56%)	2.58	65.1% (50%)
D2	MeOH (100 μL)	1% PVA+ 10mM PO ₄ (pH8)	60 μm	5.66% (57%)	1.90	85.8% (55%)
E	DMF (100 μL)	1% PVA	38μm	3.41% (34%)	1.97	50.3% (33%)
F	DMSO (100μL)	1% PVA	38 μm	4.88% (49%)	2.74	43.4% (36%)

[0104] 表 2. 制剂 D2 和 AG 的体外释放率。NaOAc 缓冲液含有 100mM NaOAc (pH 4.0)、0.02% 吐温-20 及 0.05%NaN₃。PBS 为含有 0.02% 吐温-20 和 0.05%NaN₃ 的磷酸盐缓冲液 (pH 7.2)。样品于 37℃ 在振摇 (150Hz) 的水浴温育箱中进行温育。肽和酰化的肽的释放值按累计释放百分比列出。

[0105]

[0106]

制剂 D2		
100 mM NaOAc (pH4)		
天	肽释放率%	酰化肽释放率%
0	0.0	0.0
1	5.55	0.15
3	13.75	0.78
6	53.47	4.11
10	71.74	5.16
14	72.19	5.26
20	72.21	5.28
24	72.22	5.30
29	72.22	5.30
34	72.22	5.30
42	72.22	5.30
48	72.22	5.30

[0107]

制剂 D2		
PBS (pH 7)		
天	肽释放率%	酰化肽释放率%
0	0.0	0.0
1	1.81	0.08
3	3.09	0.22
6	4.87	0.59
10	7.54	1.98
14	10.42	4.29
20	17.81	10.51
24	20.69	14.06
29	23.86	18.86
34	26.21	23.12
42	32.91	28.73
48	35.13	32.14
57	36.50	35.10
64	37.83	37.41
71	38.42	45.82
78	38.58	46.37
85	38.64	46.70

[0108]

制剂 AG		
PBS (pH 7)		
天	肽释放率%	酰化肽释放率%
0	0.0	0.0
1	8.04	0.33
2	9.09	0.47
6	12.27	0.65
15	17.75	1.23
24	20.03	1.78
29	23.78	2.66
35	36.16	5.62
42	43.80	8.15
49	51.17	11.13
57	61.47	15.57
64	67.63	18.16

[0109] 实施例 2

[0110] 根据先前使用的方法制备奥曲肽的水不溶性有机酸盐(复合物)并包封于 PLGA 微粒中

[0111] 考察有机离子物质,其中有机离子首先与醋酸奥曲肽复合形成水不溶性盐之后被包封于 PLGA 微粒中。

[0112] 十二烷基硫酸钠(SDS)通过将醋酸奥曲肽(100mg)溶于 H₂O (500 μ l)中制备奥曲肽-SDS 复合物。在室温、涡旋下将溶于 H₂O (500 μ l)的 SDS (1.5 当量,43.2mg)滴加到醋酸奥曲肽溶液中。立即生成沉淀。将样品在 10,000 转 / 分钟下离心 1 分钟,用移液管将上清液移除。沉淀经冷水洗涤并冻干得到奥曲肽-SDS 复合物(95.3mg)。RP-HPLC 分析显示奥曲肽峰明显加宽,表明形成了奥曲肽 / SDS 复合物。制剂 G-I 使用水包油乳液 / 溶剂萃取技术进行制备。将 PLGA 聚合物(MW24,000,180mg)溶于 EtOAc (900 μ L)。将奥曲肽 / SDS 复合物溶于 MeOH (100 μ L)并加入至聚合物溶液中,形成了非均一的有机相。就制剂 I (表 3)而言,额外加入 MeOH 等分试样(100 μ L)以形成均一的有机相。将所得有机相加入到含有 1%PVA 的水相(2mL)中,然后将混合物涡旋 15-30 秒。将该乳液倒入溶剂萃取液(10mM 磷酸钠, pH 8.0,150mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤分离颗粒、用水洗涤并风干过夜。将该制剂以粒径、SEM 形态学、奥曲肽核载药量及体外释放特征来表征。

[0113] 测得的由奥曲肽-SDS 复合物制备的制剂 G-I 的核载药量相对较低,介于 0.6-2.6% 之间(表 3)。中值粒径相对于用醋酸奥曲肽制备的制剂(A-F)减小约 40%。

[0114] 制剂 G-I 在 PBS 中的体外释放特征非常相似。各自具有大约 20% 的初始突释率,随后三周每周释放 1.5%。三周后释放速率增加到约 7.0%/周,最后在 9 周时累计达到约为 80% 的肽释放总量。

[0115] 与醋酸奥曲肽(制剂 A-F)相比,这些制剂的体外 PBS 释放试验导致释放了相似量的酰化肽(40-55%)及总肽。

[0116] 表 3. 有机相中的奥曲肽-SDS 复合物

[0117]

制剂	有机相共溶剂	中值粒径	核载药量(包封率)	突释率(酰化)
G	MeOH (100 μ L)	11.4 μ m	0.61%(6.1%)	20.3%(49%)
H	MeOH (100 μ L)	12.4 μ m	0.75%(7.5%)	21.2%(40%)
I	MeOH (200 μ L)	12.9 μ m	2.64%(2.6%)	20.2% (42%)

[0118] 苯甲酸 制剂(J-M)使用一到十当量的与 PLGA 共溶于有机相中的苯甲酸来制备。将 PLGA 聚合物(MW 24,000, 180mg)和苯甲酸(2.4-24mg)溶于 EtOAc (900 μ L)中。将醋酸奥曲肽溶于 MeOH (100 μ L)并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得均一有机相加入到含有 1% PVA 的水相(2mL)中并将该混合物涡旋 15-30 秒。将该乳液倒入至溶剂萃取液(10mM 的磷酸钠, pH 8.0, 150mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤分离颗粒、用水洗涤并风干过夜。在每当量醋酸奥曲肽加入的 1-10 当量苯甲酸范围内,核载药量测定为介于 0.88-1.67% 之间(表 4)。

[0119] 双羟萘酸 奥曲肽-双羟萘酸盐复合物通过将双羟萘酸(19.4mg, 0.05mmol)溶解于 0.2N NaOH (500 μ L)中得到双羟萘酸钠盐来制备。将醋酸奥曲肽(100mg, 0.10mmol)溶于去离子水(100 μ L)并在轻微涡旋下滴加至双羟萘酸钠盐溶液中,产生一种絮状浅黄色沉淀。通过离心使沉淀呈球状并用移液管移除上清液。将该小球用水洗(1.0mL)、重新悬浮于水中并冻干成浅黄色粉末(113mg)。用 RP-HPLC 测量该制剂中奥曲肽 / 双羟萘酸酯的比例为 1.71。

[0120] 另一种奥曲肽-双羟萘酸酯复合物是通过将双羟萘酸(19.4mg, 0.05mmol)溶于 0.4N NaOH (250 μ L)及二氧六环(250 μ L)中以形成双羟萘酸钠在二氧六环 / 水(1:1)中的溶液来制备。将醋酸奥曲肽(50mg, 0.05mmol)溶于二氧六环 / 水(1:1, 200 μ L)中。搅拌下将该醋酸奥曲肽溶液滴加至双羟萘酸钠中得到浅黄色、均一的溶液。将其冻干成浅黄色粉末(65mg)。用 RP-HPLC 测量该制剂中奥曲肽 / 双羟萘酸盐的比例为 1.02。这两种制剂用于制备新的 PLGA 微粒制剂。

[0121] 表 4. 有机相中的苯甲酸和醋酸奥曲肽

[0122]

制剂	有机相共溶剂	苯甲酸: 醋酸 奥曲肽比例	中值粒径	核载药量 (包封率)
J	MeOH(100 μ L)	1	21.8 μ m	1.36% (14%)
K	MeOH(100 μ L)	2	19.5 μ m	0.88% (8.8%)
L	MeOH(100 μ L)	5	18.8 μ m	1.61% (16%)
M	MeOH(100 μ L)	10	17.9 μ m	1.67% (17%)

[0123] 利用水包油乳液 / 溶剂萃取方法制备微粒制剂(表 5, Q-W)。将 PLGA 聚合物(MW 24,000, 180mg)溶于 EtOAc (1000 μ L)中。将奥曲肽双羟萘酸盐(20 或 40mg)溶于苯甲醇(BnOH, 1000 μ L)并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 1% PVA 的水相以 1:2 的比例结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(150mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。经过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。

[0124] 制剂特征(表 5)显示相对于用比例为 1.02 的奥曲肽 / 双羟萘酸盐制备的制剂,最初奥曲肽 / 双羟萘酸盐比例为 1.7 对包封率和核载药量影响很小。相反,将共溶剂改变为苯甲醇后相对于甲醇使包封率增加了大约 60% (例如,制剂 S 与 T 相比)。

[0125] 这些制剂在 PBS 中的体外释放特征表明肽释放总量(79-92%,表 5, Q-T) 与用常规方法(制剂 D、F,表 1) 制备的 PLGA 醋酸奥曲肽微粒 相当,而酰化肽释放量(28-40%,表 5Q-T) 相对于常规制剂(44-55%,表 1, A-D) 稍有减少。

[0126] 使用比例为 1:1 的奥曲肽 / 双羟萘酸盐制备的制剂与上述比例为 1.7 的制剂不同,包封率和核包封量对共溶剂的性质并未显示出强烈的依赖性。比例不同的奥曲肽 / 双羟萘酸盐复合物在共溶剂中溶解度的差异可以用来解释这种结果。奥曲肽 / 双羟萘酸盐比例越高,其在苯甲醇中的溶解度与在甲醇中相比增加,从而产生较高的包封率。相反,发现对于 1:1 的奥曲肽 / 双羟萘酸盐复合物在甲醇与苯甲醇中的溶解度没有明显差别。这产生不依赖于共溶剂的相似的包封率和核载药量。

[0127] 这些 1:1 的制剂(U-W)的体外释放特征显示具有如上所述的相似趋势,即,肽释放总百分比(85-110%,表 5U-W) 再次与常规制剂(实施例 1) (约 85%,表 2) 相当,而相对于常规制剂(44-55%,表 1, A-D2) 酰化产物的释放量(35-44%,表 5U-W) 稍微减少。

[0128] 对最终奥曲肽 / 双羟萘酸盐摩尔比的分析显示所测试的制剂(表 5) 具有较大差异,从 2.1:1 (制剂 W)到高于 200:1 (制剂 R)不等。在所有样品中,该比例为起始肽盐复合物的奥曲肽 / 双羟萘酸盐比例的两倍多。因此使用预先形成的奥曲肽双羟萘酸盐在最终缓释制剂中产生高度变化的奥曲肽 / 双羟萘酸盐摩尔比。

[0129] 表 5. 使用预先形成的复合物制备的奥曲肽 - 双羟萘酸盐微粒

[0130]

制剂	奥曲肽/双羟萘酸盐比例	有机相共溶剂	中值粒径	核载药量(包封率)	肽释放总量(酰化)
Q	1.7 :1 (4.4 : 1)	MeOH (100 μ L)	40 μ m	6.52% (65%)	88.6% (28.1%)
R	1.7 :1 (201: 1)	MeOH (500 μ L)	34 μ m	3.34% (33%)	79.2% (38.9%)
S	1.7 :1 (13: 1)	BnOH (200 μ L)	31 μ m	8.29% (83%)	87.2% (39.7%)
T	1.7 :1 (21: 1)	MeOH (200 μ L)	37 μ m	5.03% (50%)	91.5% (32.2%)
U	1: 1 (5.3 : 1)	MeOH (200 μ L)	48 μ m	4.93% (49%)	92.3% (37.3%)
V	1: 1 (5.4 : 1)	BnOH (200 μ L)	48 μ m	4.76% (48%)	110% (44.4%)
W	1: 1 (2.1 : 1)	BnOH (200 μ L)	44 μ m	5.01% (25%)	84.9% (35.0%)

[0131] 实施例 3

[0132] 根据本发明使用含水乳液中的有机酸盐将醋酸奥曲肽包封于 PLGA 微球中

[0133] 发明人出人意料地发现,在乳化方法的水相中使用有机酸盐允许使用水溶性的肽并且消除了制备该制剂之前的独立步骤中制备复合物的需要。本发明提供了更多的优势

例如增加了药物的核载药量、一致的奥曲肽 / 有机离子的比例及减少了肽在体外释放期间的降解。

[0134] 微粒制剂是通过水包油乳液 / 溶剂萃取方法制备。将 PLGA 聚合物 (MW 24,000, 140-180mg) 溶于 EtOAc (1000 μ L)。将奥曲肽双羟萘酸盐 (20-60mg) 溶于 BnOH (1000 μ L) 并加入至聚合物溶液中, 形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10-50mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 的溶剂萃取液 (150mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4°C 贮存, 使得通过 RP-HPLC 测量微粒制剂中奥曲肽 / 双羟萘酸盐的最终比例大约为 1-1.5 (表 6)。

[0135] 考察不同实验参数对核载药量的影响, 包括有机相与水相的比例、共溶剂的性质及共溶剂的体积。发现 BnOH 是比 MeOH 更为适合的共溶剂。由于 MeOH 会引起有机相中聚合物沉淀, 有可能使用的 BnOH 体积大于 MeOH。与 MeOH 相比, BnOH 也可引起核载药量的少量增加 (制剂 Y, AB, 表 6)。然而, 使用 BnOH 而水相中不含有机离子不能获得高的核载药量或包封率 (AI, 表 6)。还发现当用 BnOH 作为共溶剂时, 增加水相与有机相的比例会略微增加包封率 (制剂 AE, AF, 表 6)。与实施例 2 中使用预先形成的奥曲肽 / 双羟萘酸盐复合物导致奥曲肽 / 双羟萘酸盐的最终比例从 2.1 至高于 200 的大范围变化的制剂 (表 5) 不同, 所有制剂中奥曲肽与双羟萘酸盐的比例都集中于 1.0 至 1.5 之间。

[0136] 重要的是, 与获得的最大药物核载药量为约 8% (表 5-S), 平均为 2-6% (表 1-5) 的实施例 1 和 2 中的现有技术方法不同, 本发明方法可以制备具有可预知的及 5-17.5% 的提高的药物核载药量的产品 (制剂 AD、AG、AH, 表 6)。另外, 本发明的组合物的生物活性剂与有机离子的摩尔比具有一致的化学计量 (表 6)。这与使用先前方法制备的组合物不同 (表 5)。而且, 与使用预先制备的奥曲肽 - 双羟萘酸盐 (表 5) 或醋酸奥曲肽 (表 2) 制备的微粒相比, 用在水相中的有机离子制备的微粒的酰化肽相对生成较少。

[0137] 表 6. 通过原位方法制备的奥曲肽 - 双羟萘酸盐复合物微粒

[0138]

制剂(奥曲肽/双羟萘酸盐最终比例)	醋酸奥曲肽加入量	共溶剂	有机相 / 水相比比例	中值粒径	核载药量 (包封率)	肽释放总量 (酰化)
X (1.09 : 1)	40 mg	MeOH (200 μ L)	1: 4	79 μ m	8.52% (46.8 %)	98.8% (15.7%)
Y (0.86 : 1)	20 mg	MeOH (200 μ L)	1: 10	71 μ m	5.13% (51%)	120% (30.6%)
Z (1.09 : 1)	20 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	44 μ m	7.61% (76%)	97.1% (4.11%)
AA (1.01 : 1)	20 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	59 μ m	6.79% (6.8%)	101% (12.7%)
AB (1.11 : 1)	20 mg	BnOH (500 μ L)	1: 2	45 μ m	6.19% (62%)	97.1% (14.8%)
AC (1.14 : 1)	20 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	47 μ m	7.51% (75%)	96.8% (13.4%)
AD (1.11 : 1)	40 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	53 μ m	12.7% (64%)	101% (16.1%)
AE (1.41 : 1)	60 mg	BnOH (500 μ L)	1: 2	45 μ m	9.51% (32%)	103% (26.1%)
AF (1.16 : 1)	60 mg	BnOH (500 μ L)	1: 4	50 μ m	12.0% (40%)	108% (21.7%)
AG (1.39 : 1)	60 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	39 μ m	17.2% (57%)	92.5% (20.7%)
AH (1.36 : 1)	60 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	37 μ m	17.5% (57%)	111% (25.0%)
AI	60 mg	BnOH (1000 μ L)	1: 2	40 μ m	6.85% (23%)	ND

[0139] 考察水相中有机酸浓度的影响用以确定最佳工艺参数。将 PLGA 聚合物(MW 24,000, 160mg)溶于 EtOAc (1000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽(40mg)溶于 BnOH (1000 μ L) 并加入到聚合物溶液中,形成均一的有机相。将所得的有机相与含 20 或 50mM 双羟萘酸钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(150mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。制剂 AJ-AL 显示相对于 10mM 的双羟萘酸二钠来说, 20 或 50mM 的双羟萘酸二钠对核载药量没有影响(表 7)。然而, 双羟萘酸二钠在水相中的浓度对于“第一天”的体外 PBS 释放具有可测量的影响。与使用 20mM 有机离子制备的制剂产生小于 4% 的突释率(制剂 AJ、AK, 表 7) 相比, 使用 50mM 双羟萘酸二钠制备的制剂产生 15% 的突释率(制剂 AL, 7)。这说明在水相中过量的有机离子对于制剂的体外释放性能是有害的。

[0140] 表 7. 有机离子浓度对奥曲肽 - 双羟萘酸盐微粒形成的影响

[0141]

制剂(奥曲肽 /双羟萘酸盐 最终比例)	双羟萘酸 钠浓度	有机相 / 水相比比例	中位 粒径	核载药量 (包封率)	PBS 中的 突释率	肽释放总量 (酰化)
AJ (1.33:1)	20 mM	1: 1	33 μm	13.3% (67%)	3.77%	108% (25.7%)
AK (1.29:1)	20 mM	1: 2	41 μm	13.3% (67%)	3.38%	106% (22.4%)
AL (1.29:1)	50 mM	1: 2	54 μm	12.8% (64%)	15.0%	110% (26.8%)

[0142] 除双羟萘酸根之外还考察了其它有机离子来探索本发明的一般用途。微粒制剂是通过水包油乳液 / 溶剂萃取法制备。将 PLGA 聚合物 (MW 24,000, 160mg) 溶于 EtOAc (1000 μL) 中。将醋酸奥曲肽 (40mg) 溶于 BnOH (1000 μL) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得的有机相与含有 10-20mM 有机酸钠盐的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (150mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4°C 贮存。通过 RP-HPLC 测量所得微粒制剂的核载药量介于 6.8 至 15.3% (表 8)。这显示出受试有机离子对核载药量的影响。相对于含双羟萘酸钠的对照组 (制剂 AT、AU、AY, 表 8), 制剂 AM-AP 的所测量的核载药量未增加。相反, 应用胆酸及双环芳族化合物作为有机酸的制剂 AQ-AS、AV-AX 和 AZ-BB 提供了与双羟萘酸相当的肽核载药量 (表 8)。这些结果意味着具有适当物理化学性质的有机酸可以代替双羟萘酸以产生相当的微粒制剂。

[0143] 表 8. 水相中各种有机酸 (钠盐) 对奥曲肽 - 复合物微粒形成的影响

[0144]

制剂	有机酸钠盐 (浓度)	粒径	核载药量 (包封率)	肽释放总量 (酰化)
AM	琥珀酸盐(10 mM)	34.1	7.74% (39%)	99.9% (53.4%)
AN	苯甲酸盐 (10 mM)	32 μm	6.88% (34%)	105% (56.7%)
AO	水杨酸盐(10 mM)	34 μm	7.78% (39%)	106% (54.0%)
AP	三氟甲基对甲基苯甲酸盐 (10 mM)	33 μm	8.92% (45%)	107% (50.7%)
AQ	胆酸盐 (20 mM)	60 μm	13.2% (66%)	104% (47.2%)
AR	2-萘磺酸盐 (20 mM)	38 μm	11.6% (58%)	110% (42.6%)
AS	2,3-萘二甲酸盐 (10 mM)	38 μm	13.1% (66%)	109% (47%)
AT	双羟萘酸盐(10 mM)	45 μm	13.8 (69%)	98.5% (37%)
AU	双羟萘酸盐(10 mM)	43 μm	14.2% (71%)	97.5% (31%)
AV	1-羟基-2-萘甲酸盐 (20 mM)	42 μm	15.3% (76%)	152% (25.7%)
AW	3-羟基-2-萘甲酸盐(20mM)	40 μm	14.6% (72%)	105% (20.8%)
AX	2-萘甲酸盐 (20 mM)	39 μm	13.4% (67%)	134% (32.9%)
AY	双羟萘酸盐(10 mM)	46 μm	14.4% (72%)	103% (22%)
AZ	2-萘磺酸盐 (20 mM)	36 μm	10.8% (54%)	138% (33.0%)
BA	2,3-萘二甲酸盐 (10 mM)	46 μm	12.1% (61%)	97.8% (25%)
BB	水杨酰水杨酸盐 (20 mM)	39 μm	12.4% (62%)	114% (23.2%)

[0145] 实施例 4

[0146] 根据本发明使用在水乳浊液相中有机酸盐将额外的肽包封于 PLGA 微球中

[0147] 如下列实施例中所述,根据本发明将醋酸催产素和醋酸亮丙瑞林配制成 PLGA 微粒。与常规方法相比,这些研究结果证明了本发明在提高核载药量和包封率方面的效用(制剂 BI 对 BJ-Bk 及 BL 对 BM)(表 9)。

[0148] 制剂 BI (亮丙瑞林) — 常规包封方法

[0149] 将 PLGA 聚合物(MW 24,000,160mg)溶于 CH_2Cl_2 (1000 μL) 中。将醋酸亮丙瑞林(40mg)溶于 BnOH (1000 μL) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与 1% PVA 水相结合生成乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(150mL)中并搅

拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。该法获得中值粒径为 50.1 μm 的制剂 BI (140mg, 收率 70.0%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (1.99%)、包封率 (9.95%) 及体外突释率 (1.63%)。

[0150] 制剂 BJ (亮丙瑞林) - 有机离子辅助的包封方法

[0151] 将 PLGA 聚合物 (MW 24,000, 160mg) 溶于 CH₂Cl₂ (1000 μL) 中。将醋酸亮丙瑞林 (40mg) 溶于 BnOH (1000 μL) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合生成乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (100mL) 中并搅拌 10 分钟。加入由 2% 异丙醇 (200mL) 组成的二次萃取液并另外再搅拌四小时。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 54.0 μm 的制剂 BJ (157mg, 收率 78.5%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (9.4%)、包封率 (47.0%) 及体外突释率 (5.31%)。

[0152] 制剂 BK (亮丙瑞林) - 有机离子辅助的方法

[0153] 使用水包油乳液 / 溶剂萃取法制备微粒制剂。将 PLGA 聚合物 (MW24,000, 160mg) 溶于 CH₂Cl₂ (1000 μL) 中。将醋酸亮丙瑞林 (40mg) 溶于 BnOH (1000 μL) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含 50mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合生成乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (100mL) 中并搅拌 10 分钟。加入由 2% 异丙醇 (200mL) 组成的二次萃取液并另外再搅拌四小时。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 43.1 μm 的制剂 BK (120mg, 收率 60.0%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (10.6%)、包封率 (53.0%) 及体外突释率 (21.1%)。

[0154] 制剂 BL (催产素) - 常规包封方法

[0155] 将 PLGA 聚合物 (MW 13,000, 180mg) 溶于 EtOAc (900 μL) 中。将醋酸催产素 (20mg) 溶于 MeOH (100 μL) 并加入到聚合物溶液中形成乳状悬浊液有机相。将所得有机相与含有 5%EtOAc 的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 10mM 磷酸钠 (pH 8, 0℃, 150mL) 溶剂萃取液中并在升至室温时搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 44.0 μm 的制剂 BL (143mg, 收率 71.5%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (1.67%)、包封率 (16.7%) 及体外突释率 (46.3%)。

[0156] 制剂 BM (催产素) - 有机离子辅助的包封方法

[0157] 将 PLGA 聚合物 (MW 24,000, 180mg) 溶于 EtOAc (1800 μL) 中。将醋酸催产素 (40mg) 溶于 MeOH (200 μL) 并加入到聚合物溶液中形成乳状悬浊液有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (150mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 144 μm 的制剂 BM (158mg, 收率 79.0%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (8.9%)、包封率 (44.5%) 及体外突释率 (21.1%)。表 9 表明, 由于有机离子的存在两种不同肽的核载药量和包封率增大。

[0158] 表 9. 通过原位方法制备的肽 - 双羟萘酸盐复合物微粒

[0159]

制剂	肽	双羟萘酸盐浓度	核包封量	包封率
BI	亮丙瑞林	0 mM	2.0%	10.0%
BJ	亮丙瑞林	10 mM	9.4%	47.0%
BK	亮丙瑞林	50 mM	10.6%	53.0%
BL	催产素	0 mM	1.7%	16.7%
BM	催产素	10 mM	8.9%	49.1%

[0160] 实施例 5

[0161] 利用含水乳液相中的有机酸盐将胰岛素包封于 PLGA 微粒中

[0162] 十二烷基硫酸钠 使用水包油乳液 / 溶剂萃取方法制备微粒制剂。将由 PLGA 聚合物 (MW 11,800, 150mg) 及 PEG 化的胰岛素 (50mg) 组成的有机相溶于 CH_2Cl_2 (2mL) 中。水相由 1%PVA 及 14mM SDS 组成。将均一的有机相与水相以 1:5 的比例混合形成在水相中的有机乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (100mL) 中并搅拌 10 分钟, 之后加入 100mL 2%IPA。之后将该溶剂萃取液另外再搅拌 3 小时以萃取 CH_2Cl_2 。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 -20°C 贮存。所得微粒具有 21% 的核载药量 (包封率 84%)。这些微粒的特征为于 37°C 在 PBS 中 24h 时具有较大的 50% 的体外突释率。

[0163] 双羟萘酸二钠 利用水包油乳液 / 溶剂萃取方法制备微粒制剂。将由 PLGA 聚合物 (MW 11,800, 75mg) 及 PEG 化的胰岛素 (25mg) 组成的有机相溶于 CH_2Cl_2 (1mL) 中。水相由 1%PVA 及 10mM 双羟萘酸二钠组成。将均一的有机相及水相以 1:5 的比例混合形成在水相中的有机乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (50mL) 中并搅拌 10 分钟, 之后加入水 (100mL)。之后将该溶剂萃取液另外再搅拌 3 小时以萃取 CH_2Cl_2 。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 -20°C 贮存。所得微粒具有 18% 的核载药量 (包封率 78%) 及最终 PEG 化的胰岛素 / 双羟萘酸盐比例为 1:2。与使用 SDS 制备的微粒相比, 这些微粒于 37°C 在 PBS 中具有较低的 5% 的体外突释率。

[0164] 实施例 6

[0165] 向 Sprague Dawley 大鼠给药后 PLGA 微粒中奥曲肽的药物动力学评价

[0166] 测定从大鼠皮下注射给药的 PLGA 微粒制剂中释放的奥曲肽的血清水平。通过皮下注射单剂量水平 ($\sim 8\text{--}10\text{mg/kg}$) 的六种不同的奥曲肽 PLGA 微粒制剂处理动物 ($n=6/\text{组}$) 一次。在第 1 和 6 小时及第 1、4、7、11、14、20、28、42 和 54 天, 从每只动物获得血清样品以评价奥曲肽的药物动力学。通过可商购的无需萃取的放射性免疫测定试剂盒 (# S-2211) (Peninsula Labs) 测定血清浓度。该分析的定量限 (LOQ) 为 0.1ng/mL 。表 10 中报告每个时间点的平均奥曲肽血清浓度。受试奥曲肽 PLGA 制剂的制备如下所述。

[0167] 表 10. 大鼠单次皮下处理后的平均奥曲肽血浆水平 (ng/mL)

[0168]

制剂	剂 量 (mg/Kg)	取样天					
		0	0.04	0.25	1	4	7
BC	10.2	0.00	39.75	3.83	0.62	1.44	3.07
BD	8.9	0.00	39.95	4.00	0.95	1.66	3.41
BE	9.7	0.00	36.35	4.09	2.04	2.13	2.59
BF	8.6	0.00	39.75	3.89	1.33	2.54	3.06
BG	9.2	0.00	29.70	3.82	2.06	1.85	2.28
BH	9.4	0.00	39.80	4.13	2.90	3.70	3.64
	11	14	20	28	42	54	
BC	3.71	3.42	3.51	1.95	0.39	0.00	
BD	3.64	3.44	2.03	1.04	0.45	0.00	
BE	2.89	2.94	2.19	1.81	3.09	0.90	
BF	3.16	2.89	1.43	0.64	1.52	0.00	
BG	1.96	2.00	1.70	0.97	2.24	1.39	
BH	3.54	3.44	2.34	1.70	1.63	0.05	

[0169] 在动物实验中使用的奥曲肽制剂的制备及特性。

[0170] 制剂 BC

[0171] 将 PLGA 聚合物(MW 24,000,720mg)溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽(80mg)溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(600mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 55.0 μ m 的制剂 BC (754mg, 收率 94%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量(8.5%)、包封率(85.0%)及体外突释率(7.4%)。

[0172] 制剂 BD

[0173] 将 PLGA 聚合物(MW 24,000,680mg)溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽(120mg)溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(600mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 58.7 μ m 的制剂 BD (694mg, 收率 94%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量(11.8%)、包封率(78.7%)及体外突释率(4.1%)。

[0174] 制剂 BE

[0175] 将 PLGA 聚合物(MW 24,000,680mg)溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽(120mg)溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液(600mL)中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4℃ 贮存。这样制得中值粒径为 52.2 μ m 的制剂 BE (727mg, 收率 91%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量(11.6%)、包封率(77.3%)及体外突释率(2.75%)。

[0176] 制剂 BF

[0177] 将 PLGA 聚合物(MW 24,000,640mg)溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽

(160mg) 溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得的有机相与含 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (600mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4°C 贮存。这样制得中值粒径为 47.7 μ m 的制剂 BF (766mg, 收率 95.8%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (14.7%)、包封率 (73.5%) 及体外突释率 (5.5%)。

[0178] 制剂 BG

[0179] 将 PLGA 聚合物 (MW 28,000, 640mg) 溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽 (160mg) 溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (600mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4°C 贮存。这样制得中值粒径为 48.7 μ m 的制剂 BG (715mg, 收率 89.3%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (11.9%)、包封率 (59.5%) 及体外突释率 (2.3%)。

[0180] 制剂 BH

[0181] 将 PLGA 聚合物 (MW 14,000, 560mg) 溶于 EtOAc (4000 μ L) 中。将醋酸奥曲肽 (240mg) 溶于 BnOH (4000 μ L) 并加入到聚合物溶液中形成均一的有机相。将所得有机相与含有 10mM 双羟萘酸二钠的 1% PVA 水相结合得到乳液。将该乳液直接收集到 0.3%PVA 溶剂萃取液 (600mL) 中并搅拌四小时以萃取 EtOAc。通过过滤收集硬化的微粒、用水洗涤、风干并于 4°C 贮存。这样制得中值粒径为 40.6 μ m 的制剂 BH (680mg, 收率 85.0%)。通过 RP-HPLC 分析测定核载药量 (17.4%)、包封率 (58.0%) 及体外突释率 (6.8%)。

[0182] 在所有情况下, 生物活性剂在体内释放至少 42 天, 在某些情况下达 54 天之久。

[0183] 根据本公开的内容, 此处公开并要求权利的所有组合物和方法可以无需过度的实验而制备和实施。虽然本发明组合物及方法已经参考特定的具体实施方案进行了描述, 但本领域技术人员应明白在不偏离本发明的观念、主旨和范围的情况下可以对此处所述的组合物、方法和步骤或方法的步骤的次序进行改变。更具体而言, 应意识到化学和生理两者都相关的某些物质可以代替此处所述的物质而获得相同或相似的结果。对于本领域技术人员而言显而易见的所有这些替代和更改都被认为是落在如权利要求书所定义的本发明的主旨、范围和观念以内。