

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-513165

(P2009-513165A)

(43) 公表日 平成21年4月2日 (2009. 4. 2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 L 27/00 (2006.01)</b>	A 6 1 L 27/00 Y	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 47/34 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/34	4 C 0 8 1
<b>A 6 1 K 9/14 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/14	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 7

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-516183 (P2006-516183)	(71) 出願人	505472780
(86) (22) 出願日	平成16年6月24日 (2004. 6. 24)		メディオラニウム ファーマシューティ
(85) 翻訳文提出日	平成18年2月22日 (2006. 2. 22)		カルス リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/051226		アイルランド ダブリン 4 ヒューム
(87) 国際公開番号	W02005/000277		ハウス ボールスブリッジ (番地なし)
(87) 国際公開日	平成17年1月6日 (2005. 1. 6)		セヴンス フロアー
(31) 優先権主張番号	MI2003A001302	(74) 代理人	110000109
(32) 優先日	平成15年6月26日 (2003. 6. 26)		特許業務法人特許事務所サイクス
(33) 優先権主張国	イタリア (IT)	(72) 発明者	モーリアク パトリス
			フランス エフ-75012 パリ リュ
			ー ド ピクブ 54
		(72) 発明者	マリオン ピエール
			フランス エフ-93360 ヌイリー
			プレザンス アレ モーリス ジェネヴァ
			2

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 P L G Aマトリックス中に分散された熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントを製造するための可塑剤としてのエタノールの使用

## (57) 【要約】

押出し成形による、P L G Aベースのマトリックス中に分散された活性成分を含有する皮下インプラントの製造に可塑剤としてエタノールを使用することによって、一般に75より高い押出し成形温度を、P L G AのT gよりも高いが、エタノールの沸点よりも低い温度に下げることができ、従って70 未満の温度に下げることができる。このように、熱不安定性活性成分、例えばタンパク質を含有する皮下インプラントを製造することができる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

活性成分が P L G A のマトリックス中に分散された、皮下インプラントを製造するための、外部可塑剤としてのエタノールの使用。

## 【請求項 2】

前記エタノールの濃度が、P L G A の重量に対して 2 ~ 1 5 重量 % であることを特徴とする、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 3】

前記濃度が、P L G A の重量に対して 3 ~ 1 0 重量 % であることを特徴とする、請求項 2 に記載の使用。

## 【請求項 4】

前記濃度が、P L G A の重量に対して 5 ~ 1 0 重量 % であることを特徴とする、請求項 3 に記載の使用。

## 【請求項 5】

熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントを製造するための、請求項 4 に記載のエタノールの使用。

## 【請求項 6】

エタノールで可塑化された P L G A。

## 【請求項 7】

P L G A の重量に対して 2 ~ 1 5 重量 % の濃度でエタノールを含有する、請求項 6 に記載の可塑化 P L G A。

## 【請求項 8】

前記濃度が、P L G A の重量に対して 3 ~ 1 0 重量 % で構成される、請求項 8 に記載の可塑化 P L G A。

## 【請求項 9】

前記濃度が、P L G A の重量に対して 5 ~ 1 0 重量 % である、請求項 8 に記載の可塑化 P L G A。

## 【請求項 10】

以下の段階：

a ) P L G A を粉砕して、その粒子が 2 5 0  $\mu$  m 未満の寸法を有する粉砕物を得る段階；

b ) 上記の段階で得られた粉砕物に、P L G A に対して 5 ~ 2 0 重量部の濃度でエタノールを添加し、次いで、粘性かつ安定性のゲルが得られるまで、得られた混合物を 4 5 ~ 6 5 の温度に加熱する段階；

c ) 段階 ( b ) で得られた生成物を乾燥させる段階；

d ) 範囲 - 2 0 ~ + 5 の温度で乾燥生成物を粉砕する段階；

e ) 上記の段階から得た生成物を、粒径 2 5 0  $\mu$  m 未満の粉砕物が得られるまで予め粉砕された P L G A 自体と、それぞれ重量比 1 0 : 9 0 ~ 9 9 : 1 にて、温度 - 2 0 ~ + 5 で任意に混合する段階；

f ) 7 5 で前述の混合物を押出し成形する段階；

g ) 温度 - 2 0 ~ + 5 で押出物を粉砕する段階；

を含む、請求項 6 から 9 のいずれか一項に記載の可塑化 P L G A を製造する方法。

## 【請求項 11】

段階 ( b ) において、エタノールが、P L G A に対して 1 0 重量部の量で添加されることを特徴とする、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

段階 ( c ) において、P L G A の重量に対して 1 0 ~ 3 0 重量 % で構成される、P L G A 中のエタノールの濃度が得られるまで、乾燥が行われることを特徴とする、請求項 10 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 13】

10

20

30

40

50

前記エタノールの濃度が、P L G Aの重量に対して20重量%である、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記乾燥が、20～25 で構成される温度で空気流下にて行われることを特徴とする、請求項12または13に記載の方法。

【請求項15】

段階(d)、(e)および(g)における粉碎温度が-10 であることを特徴とする、請求項10～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

段階(e)において、段階(d)から得られるP L G Aと、P L G A自体との重量比が、16:84～40:60で構成されることを特徴とする、請求項10から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

請求項6から9のいずれか一項に記載のエタノールで可塑化されたP L G A中に分散された活性成分を含有する皮下インプラント。

【請求項18】

請求項6から9のいずれか一項に記載の可塑化P L G A中に分散された熱不安定性活性成分を含有する、請求項17に記載の皮下インプラント。

【請求項19】

前記熱不安定性活性成分が、遺伝子治療用のタンパク質、ワクチン、抗体およびベクターからなる種類から選択されることを特徴とする、請求項18に記載の皮下インプラント。

【請求項20】

以下の段階：

i) 温度-20～+5 にて、請求項6から9のいずれか一項に記載の可塑化P L G Aと、活性成分を混合する段階；

ii) 段階(i)から得られた粉碎物を70 未満の温度で押出し成形する段階；を含む、請求項17から19のいずれか一項に記載の皮下インプラントの製造方法。

【請求項21】

段階(i)の温度が-10 であることを特徴とする、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

P L G Aの重量に対して3～4重量%の濃度でエタノールを含有する可塑化P L G Aが段階(i)で使用される場合に、段階(ii)の温度が60 未満であることを特徴とする、請求項20から21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

P L G Aの重量に対して5～10重量%の濃度でエタノールを含有する可塑化P L G Aが使用される場合に、段階(ii)の温度が40 に等しいことを特徴とする、請求項20から22のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、P L G Aマトリックス中に分散された熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントを製造するための可塑剤としてのエタノールの使用に関する。

【0002】

現況技術

最新の現況技術において、P L G Aの押出し成形温度は75 よりも高い。通常、押出し成形中の温度は、押出し成形されるべきポリマーのT<sub>g</sub>を40～50 超える温度でなければならない。この種の技術を用いて、ポリ乳酸グリコール酸(P L G A)マトリックス中に分散された熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントを製造するのは不可能である。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 0 3 】

この種の活性成分を有する皮下インプラントを製造するため、このような技術を使用するためには、押出し成形温度を下げなければならない。一般に、押出し成形温度を下げるためには、可塑性剤が広く一般に使用されており、可塑性剤によって、その T g の低下に次いで、ポリマーのたわみ性および加工性が向上する。ポリマーに添加される可塑性剤の量は、所望の効果の関数として変化する。

## 【 0 0 0 4 】

可塑性剤に必須の条件は、不揮発性である。一般的な現代の可塑性剤は合成有機化合物であり；ほとんどの場合には、それらはアジピン酸エステルおよびフタル酸エステルなどのエステルである。これらの種類の生成物は生体適合性ではなく、したがって、一般にヒトおよび哺乳動物に適用する皮下インプラントには使用することができない。

10

## 【 0 0 0 5 】

トリアセチン、N - メチル - 2 - ピロリドン、グリセロールおよびホルムアルデヒドなどの他の種類の可塑性剤に関しては、ヒトおよび哺乳動物に対するその毒性が完全に確かめられていない。

## 【 0 0 0 6 】

したがって、前記の種類の皮下インプラントの製造において、P L G A の押出し成形温度を低減することができ、現況技術の欠点を示さず、かつ無毒の可塑性剤の必要性が感じられていた。

20

## 【 0 0 0 7 】

発明の概要

特に、本出願人は、揮発性物質であるエタノールは迅速かつ均一に、エタノールの T g よりも高い温度、かつエタノールの沸点よりも低い温度で粉碎 P L G A 中に拡散するため、外部 ( external ) 可塑性剤としてエタノールを使用して皮下インプラントを製造することができることを見出した。

## 【 0 0 0 8 】

「外部可塑性剤」という用語は、押出し成形により皮下インプラントを製造する方法ではなく、前述の製造の前の段階で、というよりむしろ、その後に皮下インプラントの製造に使用されるであろう「可塑性化」ポリマーの製造段階において使用される可塑性剤を意味する。

30

## 【 0 0 0 9 】

したがって、本発明の他の態様は、可塑性剤としてエタノールを含有する可塑性化 P L G A である。

## 【 0 0 1 0 】

したがって、この可塑性化ポリマーは、以下の段階：

- a ) P L G A を粉碎して、その粒子が 2 5 0  $\mu$  m 未満の寸法を有する粉碎物を得る段階；
- b ) 上記の段階で得られた粉碎物に、P L G A に対して 5 ~ 2 0 重量部の濃度でエタノールを添加し、次いで、粘性かつ安定性のゲルが得られるまで、得られた混合物を 4 5 ~ 6 5 の温度に加熱する段階；
- c ) 段階 ( b ) で得られたゲルを乾燥させる段階；
- d ) - 2 0 ~ + 5 の温度で段階 ( c ) から得た乾燥生成物を粉碎する段階；
- e ) 上記の段階から得た生成物を、2 5 0  $\mu$  m 未満の寸法の粉碎物が得られるまで予め粉碎された P L G A 自体と、それぞれ重量比 1 0 : 9 0 ~ 9 9 : 1 にて、温度 - 2 0 ~ + 5 で任意に混合する段階；
- f ) 7 5 で前述の混合物を押出し成形する段階；
- g ) 温度 - 2 0 ~ + 5 で押出物を粉碎して、本発明に従ってエタノールで可塑性化された P L G A が得られる段階；を含む方法を用いて製造される。

40

## 【 0 0 1 1 】

本発明の他の態様は、本発明に従ってエタノールで可塑性化された P L G A をベースとす

50

るマトリックス中に分散された活性成分を含有する皮下インプラントである。

【0012】

本発明の詳細な説明

本発明の可塑化PLGAは一般に、PLGAの重量に対して、2～15重量%、好ましくは3～10重量%、さらに好ましくは5～10重量%の濃度でエタノールを含有する。

【0013】

本出願人は実際に、2～3重量%の濃度でエタノールを含有する可塑化PLGAを使用することによって、ポリマーのTgを下げることができ、その結果として、押出し成形温度を70より低い温度に下げることができ；3～4重量%よりも高い濃度でエタノールを使用することによって、この温度を60よりも低い値に下げることができることを見出した。

10

【0014】

本出願人は、可塑化ポリマーの重量に対して5～10%の濃度でエタノールを使用することによって、押出し成形温度を40（つまり、大部分の熱不安定性生物活性成分と適合する温度）に下げることができるもまた見出した。

【0015】

したがって、本発明による可塑化ポリマーは、熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントの組成物の製造に使用される場合、好ましくは5～10%の濃度でエタノールを含有する。段階（b）において添加されるエタノールの量は、PLGAに対して10重量部に等しいことが好ましい。

20

【0016】

段階（c）において、PLGAの重量に対して好ましくは10～30重量%、さらに好ましくは20重量%で構成される、PLGA中のエタノール濃度が得られるまで、乾燥が行われる。段階（c）における乾燥は、20～25で構成される温度で空気流下にて行われることが好ましい。

【0017】

段階（d）、（e）および（g）における粉碎温度は好ましくは-10であり、段階（d）から得られるPLGA/PLGA自体の重量比は好ましくは、16：84～40：60である。

【0018】

段階（e）において、未処理のPLGAに対して、エタノールで処理したPLGAの濃度（重量による）を増加することによって、その後の皮下インプラントの製造段階の押出し成形温度が低減される。

30

【0019】

本発明の他の態様である皮下インプラントは、以下の段階：

i) -20～+5の温度で活性成分を本発明の可塑化PLGAと混合する段階；

ii) 70未満、好ましくは60未満の温度で段階（i）から得た粉碎物を押出し成形する段階；を含む方法によって製造される。

【0020】

上述のように、段階（i）で使用される可塑化ポリマーがエタノールを5～10%含有する場合、段階（ii）における押出し成形温度は約40である。

40

【0021】

この場合には、前述の方法は、熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントの製造に特に適している。「熱不安定性活性成分」という用語は、低温で保存しなければならない活性成分、特にタンパク質（ホルモン、成長因子、酵素等）、遺伝子治療用のワクチン、抗体およびベクターを意味する。

【0022】

本発明に従ってエタノールで可塑化されたポリマーは、非熱不安定性活性成分を含有する皮下インプラントの製造に使用することもできるが、いずれにしても、念のために、急な温度変化にそれをさらさないほうがよい。

50

## 【 0 0 2 3 】

エタノールで可塑化された P L G A を含有し、かつ熱不安定性活性成分を含有する本発明の皮下インプラントの製造と共に、本発明のエタノールを含有する可塑化ポリマーの製造の例示的であるが、非制限的なくいくつかの例が、本明細書において以下に記載されている。

## 【 0 0 2 4 】

### 実施例 1 - 組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子 ( r - H u - G - C S F ) を含有する皮下インプラントの製造

#### a ) エタノールで可塑化された P L G A の製造

以下の特徴：

クロロホルム中 ( c = 0 . 1 g / d l ) で 2 5 ° で測定されたインヘレント粘度 0 . 1 9 d l / g ；

ラクチド / グリコリドのモル比： 5 3 / 4 7 ；

T g : 4 0 ° C ；

を有する P L G A 。

10

## 【 0 0 2 5 】

0 . 1 2 g / m l に等しい、エタノール中の P L G A の濃度が得られるまで、粉碎物に過剰量のエタノールを添加し、4 5 ° に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、2 0 % ( 重量 / 重量 ) に等しい量のエタノールを含有する P L G A が得られるまで、2 0 ° で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、- 1 0 ° にて重量比 4 0 : 6 0 で混合し、次いで、前記混合物を 7 5 ° で押出し成形する。次いで、押出物を - 1 0 ° で粉碎して、エタノール含有率 8 % ( 質量 / 質量 ) の可塑化 P L G A が得られる。

20

## 【 0 0 2 6 】

#### b ) 皮下インプラントの製造

以下の特徴：

タンパク質含有率 ( 比色定量 - B r a d f o r d ) : 2 . 1 ~ 2 . 6 % ( 質量 / 質量 ) ；

；

生物学的効力 ( I n v i t r o - S t d W H O # 8 8 / 5 0 2 ) : 2 1 ~ 3 1 × 1 0 <sup>6</sup> I U / m g タンパク質 ；

30

賦形剤；マンニトール / ポリソルベート 8 0 / 第一リン酸ナトリウム / 第二リン酸ナトリウム十二水和物 / ヒトアルブミン ( それぞれ 9 3 . 4 % / 0 . 0 1 % / 1 . 9 % / 0 . 5 % / 1 . 9 % ( 質量 / 質量 ) ) ；

を有するタンパク質 r - H u - G - C S F からなる活性成分と、可塑化ポリマー ( P L G A ) とを、それぞれ重量比 3 1 : 6 9 で - 1 0 ° でよく混合した。このようにして得られた粉末を 4 0 ° で押出し成形した。次いで、得られた押出物 ( 直径 1 . 5 m m ) を長さ 1 8 m m に切断し、それぞれ重量 4 0 m g であり、タンパク質を 6 . 6 × 1 0 <sup>6</sup> I U に等しい量で含有する円筒形の被覆物 ( deposit ) を形成した。

40

## 【 0 0 2 7 】

### 実施例 2 - 組換えヒト顆粒球コロニー刺激因子 ( r - H u - G - C S F ) を含有する皮下インプラントの製造

#### a ) エタノールで可塑化された P L G A の製造

実施例 1 に記載の P L G A と同じ特徴を有する P L G A を、2 5 0 μ m 未満の粒径が得られるまで粉碎する。0 . 1 2 g / m l に等しい、エタノール中の P L G A の濃度が得られるまで、粉碎物に過剰量のエタノールを添加し、4 5 ° に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、2 0 % ( 重量 / 重量 ) に等しい量のエタノールを含有する P L G A が得られるまで、2 0 ° で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、- 1 0 ° にて重量比 3 2 . 5 : 6 7 .

50

5 で混合し、次いで、前記混合物を 75 で押し出し成形する。次いで、押し出物を - 10 で粉砕して、エタノール含有率 6.5% (質量/質量) の可塑性 PLGA が得られる。

【0028】

#### b) 皮下インプラントの製造

実施例 1 に記載のものと同じ特徴を有するタンパク質 r - Hu - G - CSF からなる活性成分と、可塑性ポリマー (PLGA) とを、それぞれ重量比 30 : 70 で - 10 でよく混合した。このようにして得られた粉末を 50 で押し出し成形した。次いで、得られた押し出物 (直径 1.5 mm) を長さ 18 mm に切断し、それぞれ重量 40 mg であり、タンパク質を  $6.6 \times 10^6$  IU に等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。

【0029】

#### 実施例 3 - 組換えヒト顆粒球コロニー刺激因 (r - Hu - G - CSF) を含有する皮下インプラントの製造

##### a) エタノールで可塑性された PLGA の製造

実施例 1 に記載の PLGA と同じ特徴を有する PLGA を、250  $\mu$ m 未満の粒径が得られるまで粉砕する。0.12 g/ml に等しい、エタノール中の PLGA の濃度が得られるまで、粉砕物に過剰量のエタノールを添加し、45 に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、20% (重量/重量) に等しい量のエタノールを含有する PLGA が得られるまで、20 で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、- 10 にて重量比 16 : 84 で混合し、次いで、前記混合物を 75 で押し出し成形する。次いで、押し出物を - 10 で粉砕して、エタノール含有率 3.2% (質量/質量) の可塑性 PLGA が得られる。

【0030】

#### b) 皮下インプラントの製造

実施例 1 に記載のものと同じ特徴を有するタンパク質 r - Hu - G - CSF からなる活性成分と、可塑性ポリマー (PLGA) とを、それぞれ重量比 30 : 70 で - 10 でよく混合した。このようにして得られた粉末を 60 で押し出し成形した。次いで、得られた押し出物 (直径 1.5 mm) を長さ 18 mm に切断し、それぞれ重量 40 mg であり、タンパク質を  $6.6 \times 10^6$  IU に等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。

【0031】

#### 実施例 4 - 組換えヒト成長ホルモン (r - Hu - GH) を含有する皮下インプラントの製造

##### a) エタノールで可塑性された PLGA の製造

以下の特徴：

クロロホルム中 ( $c = 0.1$  g/dl) で 25 で測定されたインヘレント粘度 0.19 dl/g；

ラクチド/グリコリドのモル比：53/47；

Tg：40；

を有する PLGA を、250  $\mu$ m 未満の粒径が得られるまで粉砕する。0.12 g/ml に等しい、エタノール中の PLGA の濃度が得られるまで、粉砕物に過剰量のエタノールを添加し、45 に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、20% (重量/重量) に等しい量のエタノールを含有する PLGA が得られるまで、20 で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、- 10 にて重量比 40 : 60 で混合し、次いで、前記混合物を 75 で押し出し成形する。次いで、押し出物を - 10 で粉砕して、エタノール含有率 8% (質量/質量) の可塑性 PLGA が得られる。

【0032】

#### b) 皮下インプラントの製造

以下の特徴：

10

20

30

40

50

関連タンパク質（モノグラフ「ソマトロピン」 - ヨーロッパ薬局方の第4版のNr 0951による液体クロマトグラフィー）：最大13%（ピーク面積）；

二量体および高分子量の関連物質（モノグラフ「ソマトロピン」 - ヨーロッパ薬局方の第4版のNr 0951によるサイズ排除クロマトグラフィー）：最大6%（ピーク面積）；

タンパク質含有率（モノグラフ「ソマトロピン」 - ヨーロッパ薬局方の第4版のNr 0951によるサイズ排除クロマトグラフィー）：4.5～5.3%（質量/質量）；

生物学的効力：（モノグラフ「ソマトロピン」 - ヨーロッパ薬局方の第4版のNr 0951によるサイズ排除クロマトグラフィー）： $2.7 \times 3.2 \text{ IU/mg}$  タンパク質；

賦形剤：グリシン/第一リン酸ナトリウム/第二リン酸ナトリウム十二水和物（それぞれ91.4%/1.0%/2.5%（質量/質量））；

を有するタンパク質r-Hu-GHからなる活性成分と、可塑化ポリマー（PLGA）とを、それぞれ重量比30：70で-10でよく混合した。このようにして得られた粉末を40で押し出し成形した。次いで、得られた押出物（直径1.5mm）を長さ18mmに切断し、それぞれ重量40mgであり、タンパク質を1.8IUに等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。

#### 【0033】

被覆物内のタンパク質の完全性を以下の分析パッケージ：

ヨーロッパ薬局方の第4版のモノグラフ「ソマトロピン」（Nr 0951）に従った液体クロマトグラフィーによる関連タンパク質；

ヨーロッパ薬局方の第4版のモノグラフ「ソマトロピン」（Nr 0951）に従ったサイズ排除クロマトグラフィーによる、二量体および高分子量の関連物質；

ヨーロッパ薬局方の第4版のモノグラフ「ソマトロピン」（Nr 0951）に従ったサイズ排除クロマトグラフィーによるアッセイ；  
によって調べた。

#### 【0034】

実施例5 - 組換えヒト成長ホルモン（r-Hu-GH）を含有する皮下インプラントの製造

##### a) エタノールで可塑化されたPLGAの製造

実施例4に記載のPLGAと同じ特徴を有するPLGAを、 $250 \mu\text{m}$ 未満の粒径が得られるまで粉碎する。 $0.12 \text{ g/ml}$ に等しい、エタノール中のPLGAの濃度が得られるまで、粉碎物に過剰量のエタノールを添加し、45に加熱した水浴に入れて、1分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを3分間、エタノール中で維持する。これに続いて、20%（重量/重量）に等しい量のエタノールを含有するPLGAが得られるまで、20で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、-10にて重量比32.5：67.5で混合し、次いで、前記混合物を75で押し出し成形する。次いで、押出物を-10で粉碎して、エタノール含有率6.5%（質量/質量）の可塑化PLGAが得られる。

#### 【0035】

##### b) 皮下インプラントの製造

実施例4に記載のものと同じ特徴を有するタンパク質r-Hu-G-CSFからなる活性成分と、可塑化ポリマー（PLGA）とを、それぞれ重量比30：70で-10でよく混合した。このようにして得られた粉末を50で押し出し成形した。次いで、得られた押出物（直径1.5mm）を長さ18mmに切断し、それぞれ重量40mgであり、タンパク質を1.8IUに等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。実施例4に記載のものと同じ分析パッケージによって、被覆物内のタンパク質の完全性を調べた。

#### 【0036】

実施例6 - 組換えヒト成長ホルモン（r-Hu-GH）を含有する皮下インプラントの製造

##### a) エタノールで可塑化されたPLGAの製造



実施例 4 に記載の P L G A と同じ特徴を有する P L G A を、 $250\text{ }\mu\text{m}$  未満の粒径が得られるまで粉砕する。 $0.12\text{ g/ml}$  に等しい、エタノール中の P L G A の濃度が得られるまで、粉砕物に過剰量のエタノールを添加し、 $45^{\circ}\text{C}$  に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、 $20\%$  (重量 / 重量) に等しい量のエタノールを含有する P L G A が得られるまで、 $20^{\circ}\text{C}$  で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、 $-10^{\circ}\text{C}$  にて重量比  $16:84$  で混合し、次いで、前記混合物を  $75^{\circ}\text{C}$  で押し出し成形する。次いで、押し出物を  $-10^{\circ}\text{C}$  で粉砕して、エタノール含有率  $3.2\%$  (質量 / 質量) の可塑化 P L G A が得られる。

【0037】

#### b) 皮下インプラントの製造

実施例 4 に記載のものと同じ特徴を有するタンパク質 r - H u - G - C S F からなる活性成分と、可塑化ポリマー ( P L G A ) とを、それぞれ重量比  $30:70$  で  $-10^{\circ}\text{C}$  でよく混合した。このようにして得られた粉末を  $60^{\circ}\text{C}$  で押し出し成形した。次いで、得られた押し出物 (直径  $1.5\text{ mm}$ ) を長さ  $18\text{ mm}$  に切断し、それぞれ重量  $40\text{ mg}$  であり、タンパク質を  $1.8\text{ IU}$  に等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。

【0038】

#### 実施例 7 - インターフェロン - 2 a を含有する皮下インプラントの製造

##### a) エタノールで可塑化された P L G A の製造

以下の特徴：

クロロホルム中 ( $c = 0.1\text{ g/dl}$ ) で  $25^{\circ}\text{C}$  で測定されたインヘレント粘度  $0.19\text{ dl/g}$ ；

ラクチド / グリコリドのモル比： $53/47$ ；

$T_g: 40^{\circ}\text{C}$ ；

を有する P L G A を、 $250\text{ }\mu\text{m}$  未満の粒径が得られるまで粉砕する。 $0.12\text{ g/ml}$  に等しい、エタノール中の P L G A の濃度が得られるまで、粉砕物に過剰量のエタノールを添加し、 $45^{\circ}\text{C}$  に加熱した水浴に入れて、1 分間攪拌する。エタノールがポリマー中に拡散し、粘性のゲルが形成される。このゲルを 3 分間、エタノール中で維持する。これに続いて、 $20\%$  (重量 / 重量) に等しい量のエタノールを含有する P L G A が得られるまで、 $20^{\circ}\text{C}$  で乾燥させる。このようにして得られたポリマーを未処理の同じ種類のポリマー自体と、 $-10^{\circ}\text{C}$  にて重量比  $40:60$  で混合し、次いで、前記混合物を  $75^{\circ}\text{C}$  で押し出し成形する。次いで、押し出物を  $-10^{\circ}\text{C}$  で粉砕して、エタノール含有率  $8\%$  (質量 / 質量) の可塑化 P L G A が得られる。

【0039】

##### b) 皮下インプラントの製造

以下の特徴：

関連タンパク質 (モノグラフ「インターフェロン - 2 濃厚溶液」 - ヨーロッパ薬局方の第 4 版の N r 1110 による液体クロマトグラフィー)：最大  $5\%$  (ピーク面積)；

タンパク質含有率： $1.8\%$  (質量 / 質量)；

生物学的効力：(モノグラフ「インターフェロン - 2 濃厚溶液」 - ヨーロッパ薬局方の第 4 版の N r 1110 によるサイズ排除クロマトグラフィー)： $2.3 \times 10^8\text{ IU/mg}$  タンパク質；

賦形剤；酢酸ナトリウム / 塩化ナトリウム / トレハロース (それぞれ  $5.9\% / 8.4\% / 83.9\%$  (質量 / 質量))；

を有するタンパク質インターフェロン - 2 a からなる活性成分と、可塑化ポリマー ( P L G A ) とを、それぞれ重量比  $25:75$  で  $-10^{\circ}\text{C}$  でよく混合した。

【0040】

このようにして得られた粉末を  $40^{\circ}\text{C}$  で押し出し成形した。次いで、得られた押し出物 (直径  $1.5\text{ mm}$ ) を長さ  $18\text{ mm}$  に切断し、それぞれ重量  $40\text{ mg}$  であり、タンパク質を  $40 \times 10^6\text{ IU}$  に等しい量で含有する円筒形被覆物を形成した。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 4 1 】

デポー（depot）内のタンパク質の完全性を以下の分析パッケージ：

ヨーロッパ薬局方の第4版のモノグラフ「インターフェロン - 2 濃厚溶液」（Nr 1 1 1 0）に従った液体クロマトグラフィーによる関連タンパク質；によって調べた。

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PC17EP2004/051226

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61K9/22		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 5 520 923 A (NORTHEY RICHARD P ET AL) 28 May 1996 (1996-05-28) column 2, line 46 - column 3, line 13  column 5, line 24 - line 29 column 7, line 50 - line 53 claims 1-12	1-9, 17-19 10-16, 20-23
X	WO 03/041685 A (ALZA CORP) 22 May 2003 (2003-05-22) page 25 - page 29; examples 1-4	1-9, 17-19
X Y	WO 00/33809 A (MARION PIERRE ;MAQUIN ALAIN (FR); MAURIAC PATRICE (FR); MEDIOLANUM) 15 June 2000 (2000-06-15) page 7 - page 9; example 1	6  10-16, 20-23
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  4 October 2004		Date of mailing of the international search report  19/10/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Muller, S

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP2004/051226

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5520923	A	28-05-1996	AU 3104295 A WO 9609078 A1	09-04-1996 28-03-1996
WO 03041685	A	22-05-2003	BR 0206469 A CA 2466642 A1 EP 1446099 A1 NO 20033179 A WO 03041685 A1 US 2003157178 A1	13-01-2004 22-05-2003 18-08-2004 04-09-2003 22-05-2003 21-08-2003
WO 0033809	A	15-06-2000	IT MI982655 A1 AT 253893 T AU 757898 B2 AU 1971100 A BR 9916053 A CA 2354034 A1 CN 1329485 T DE 69912836 D1 DK 1137400 T3 WO 0033809 A1 EP 1137400 A1 ES 2211211 T3 JP 2002531486 T PT 1137400 T TW 561053 B US 6620422 B1	12-06-2000 15-11-2003 13-03-2003 26-06-2000 04-09-2001 15-06-2000 02-01-2002 18-12-2003 22-03-2004 15-06-2000 04-10-2001 01-07-2004 24-09-2002 31-03-2004 11-11-2003 16-09-2003

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 39/00 (2006.01)</b>		A 6 1 K 39/00		A
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>		A 6 1 K 39/395		D
<b>A 6 1 K 35/76 (2006.01)</b>		A 6 1 K 35/76		
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>		A 6 1 P 43/00	1 0 1	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

F ターム(参考) 4C076 AA31 AA81 AA95 BB32 CC06 CC09 DD37G EE24A FF01 FF31  
GG03  
4C081 AB11 BA16 BB06 CA161 CE02 CE07 DC13 EA02  
4C084 AA02 AA03 AA13 BA44 CA62 MA41 MA67 NA10 NA12 ZC411  
4C085 AA03 AA13 BA01 DD74 EE05  
4C087 AA01 AA02 BC83 MA05 MA41 MA67 NA10 NA12 ZC01