

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99802517.8

[43] 公开日 2001 年 3 月 28 日

[11] 公开号 CN 1289256A

[22] 申请日 1999. 1. 20 [21] 申请号 99802517. 8

[30] 优先权

[32] 1998. 1. 29 [33] US [31] 09/015, 394

[86] 国际申请 PCT/US99/01180 1999. 1. 20

[87] 国际公布 WO99/38536 英 1999. 8. 5

[85] 进入国家阶段日期 2000. 7. 28

[71] 申请人 波利曼德有限公司

地址 美国南卡罗莱纳州

[72] 发明人 薛勒比·沃赫拜·薛勒比

[74] 专利代理机构 隆天国际专利商标代理有限公司

代理人 杨淑媛 郑霞

权利要求书 8 页 说明书 33 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 可吸收的微颗粒

[57] 摘要

本发明涉及一种持续释放配合物,该配合物含有固定在选择地具有可吸收聚合物包被的可吸收聚合物微颗粒上的一种或多种肽、一种或多种蛋白质或其组合物。本发明的微颗粒配合物包括:肽(类)和/或蛋白质(类),其每个分子至少具有一个氨基和/或至少一个羧基;一种可吸收的聚酯固体微颗粒,其具有足量的、可结合肽(类)和/或蛋白质(类)的表面和次表面的羧基或氨基,以使固定化肽(类)或蛋白质(类)占微颗粒配合物总量的 0.1%—30%。这种具有固定化肽(类)和/或蛋白质(类)的微颗粒配合物还可以进一步用可吸收聚合物进行单个包裹或按组包裹,以便进一步控制固定化肽(类)和/或蛋白质(类)的释放。为了进一步控制固定化肽(类)和/或蛋白质(类)的释放,将所述的包裹微颗粒加入到具有可吸收胶凝液体的组合物中,所述的可吸收胶凝液体在生物环境中与水接触后能转化成柔性凝胶或半固体物。

知识产权出版社出版

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1: 一种结合微颗粒, 它包括一种可吸收杂链聚合物核心以及将其固
定在所述的可吸收杂链聚合物核心上的一种或多种肽、一种或多种蛋白
5 质或其混合物,

其中每一种肽分别选自由以下所组成的组: 生长激素释放肽
(GHRP)、促黄体素释放激素(LHRH)、抑生长素、铃蟾肽、胃泌素
释放肽(GRP)、降钙素、缓激肽、galanin、促黑激素(MSH)、生
长激素释放因子(GRF)、糊精、速激肽、胰泌素、甲状旁腺素(PTH)、
10 脑啡肽、内皮素、降钙素基因释放肽(CGRP)、神经调节肽、甲状旁腺
素相关蛋白质(PTHrP)、胰高血糖素、神经降压肽、促肾上腺皮质激
素(ACTH)、YY肽(PYY)、胰高血糖素释放肽(GLP)、血管活性
肠肽(VIP)、垂体腺苷酸酯环化酶活性肽(PACAP)、促胃动素、P
物质、神经肽Y(NPY)、促甲状腺激素及其类似物和片段或其药物上
15 可接受的盐; 和

其中每一种蛋白质分别选自由以下所组成的组: 生长激素、促红细胞
生成素、粒细胞集落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子和干扰素。

2. 根据权利要求1所述的结合微颗粒, 其中所述的肽、蛋白质、或其
混合物、或其药物上可接受的盐占所述的结合微颗粒总量的0.1%-30%。

20 3. 根据权利要求2所述的结合微颗粒, 其中所述的可吸收杂链聚合
物核心包括甘醇酸酯单元。

4. 根据权利要求3所述的结合微颗粒, 其中所述的可吸收杂链聚合
物核心进一步包括柠檬酸酯残余物。

5. 根据权利要求4所述的结合微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与柠檬酸
25 酯残余物的比例约为7-1:约20-1。



6. 根据权利要求 3 所述的结合微颗粒，其中可吸收的聚合物核心进一步包括酒石酸酯残余物。

7. 根据权利要求 6 所述的结合微颗粒，其中甘醇酸酯单元与酒石酸酯残余物的比例约为 7-1:约 20-1。

5 8. 根据权利要求 3 所述的结合微颗粒，其中可吸收的杂链聚合物核心进一步包括苹果酸酯残余物。

9. 根据权利要求 8 所述的结合微颗粒，其中甘醇酸酯单元与苹果酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1。

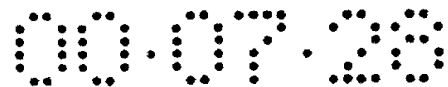
10 10. 根据权利要求 3 所述的结合微颗粒，其中所述的甘醇酸酯单元的末端为羧基部分。

11. 根据权利要求 3 所述的结合微颗粒，其中所述的甘醇酸酯单元的末端为胺部分。

12. 一种包裹微颗粒，它包括一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒，

15 其中所述的结合微颗粒包括一种可吸收杂链聚合物核心以及将其固定在所述的吸收杂链聚合物核心上的一种或多种肽、一种或多种蛋白质或其混合物，

其中每一种肽分别选自由以下所组成的组：生长激素释放肽（GHRP）、促黄体素释放激素（LHRP）、抑生长素、铃蟾肽、胃泌素
20 释放肽（GRP）、降钙素、缓激肽、galanin、促黑激素（MSH）、生长激素释放因子（GRF）、糊精、速激肽、胰泌素、甲状旁腺素（PTH）、脑啡肽、内皮素、降钙素基因释放肽（CGRP）、神经调节肽、甲状旁腺素相关蛋白质（PTHrP）、胰高血糖素、神经降压肽、促肾上腺皮质激素（ACTH）、YY 肽（PYY）、胰高血糖素释放肽（GLP）、血管活性
25 肠肽（VIP）、垂体腺苷酸酯环化酶环化活性肽（PACAP）、促胃动素、



P 物质、神经肽 Y (NPY)、促甲状腺激素及其类似物和片段或其药物上可接受的盐；和

其中每一种蛋白质分别选自由以下所组成的组：生长激素、促红细胞生成素、粒细胞集落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子和干扰素；且所述的可吸收杂链聚全物核心包括甘醇酸酯单元。

13. 根据权利要求 12 所述的包裹微颗粒，其中所述的肽、蛋白质、或其混合物、或其药物上可接受的盐占所述的结合微颗粒总量的 0.1%-30%，且所述的可吸收杂链聚全物核心进一步包括柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物。

14. 根据权利要求 13 所述的包裹微颗粒，其中甘醇酸酯单元与柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, 且所述的甘醇酸酯单元的末端为羧基部分或胺部分。

15. 根据权利要求 14 所述的包裹微颗粒，其中所述的可吸收的包裹聚合物包括：

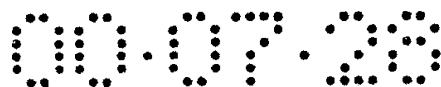
- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- (c) d, 1-丙交酯基本单元, 或
- (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

16. 根据权利要求 15 所述的包裹微颗粒，其中 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10 。

17. 根据权利要求 15 所述的包裹微颗粒，其中 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20 。

18. 根据权利要求 15 所述的包裹微颗粒，其中 d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10 。

19. 根据权利要求 14 所述的包裹微颗粒，其中所述的可吸收包裹聚



合物占所述的包裹微颗粒总量的 5%-70%。

20. 根据权利要求 19 所述的包裹微颗粒，其中所述的可吸收包裹聚合物占所述的包裹微颗粒总量的 20-60%。

21. 根据权利要求 20 所述的包裹微颗粒，其中所述可吸收包裹聚合物占该包裹微颗粒总量的 30-50%。

22. 一种药物组合物，它包括权利要求 1 所述的结合微颗粒和药物上可接受的载体。

23. 一种药物组合物，它包括权利要求 1 所述的结合微颗粒、一种非水可吸收胶凝液体聚酯和任一药物上可接受的载体。

24. 一种药物组合物，它包括权利要求 12 所述的包裹微颗粒和药物上可接受的载体。

25. 一种药物组合物，它包括权利要求 12 所述的包裹微颗粒、一种非水可吸收胶凝液体聚酯和任一药物上可接受的载体。

26. 根据权利要求 4 所述的结合微颗粒，其中肽是一种 LHRH 类似物。

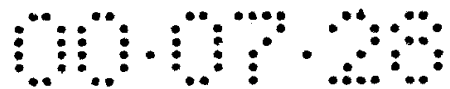
27. 根据权利要求 26 所述的结合微颗粒，其中甘醇酸酯单元与可吸收杂链聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，其中 LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂。

28. 根据权利要求 6 所述的结合微颗粒，其中肽是一种 LHRH 类似物。

29. 根据权利要求 28 所述的结合微颗粒，其中甘醇酸酯单元与酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，且 LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂。

30. 根据权利要求 4 所述的结合微颗粒，其中肽是一种抑生长素类似物。

31. 根据权利要求 30 所述的结合微颗粒，其中甘醇酸酯单元与柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，且抑生长素类似物为：H-β-D-



Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; 或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接。

32. 根据权利要求 6 所述的结合微颗粒, 其中肽是一种抑生长素类似物。

33. 根据权利要求 32 所述的结合微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, 且抑生长素类似物为: H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; 或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接。

34. 一种包裹微颗粒, 它包括权利要求 26 所述的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒, 所述的可吸收包裹聚合物包括:

- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
- (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
- (c) d, 1-丙交酯基本单元, 或
- (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

35. 根据权利要求 34 所述的包裹微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, 且其中:

- (a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,
- (b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约

90-10,

(c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

36. 一种包裹微颗粒, 它包括权利要求 28 所述的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒, 所述的可吸收包裹聚合物包括:

- 5
- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
 - (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
 - (c) d, 1-丙交酯基本单元, 或
 - (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

10 37. 根据权利要求 36 所述的包裹微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, 且其中:

- (a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,
- (b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约

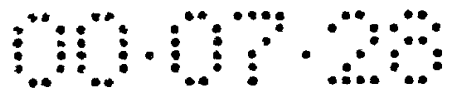
90-10, 和,

- 15 (c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

38. 一种包裹微颗粒, 它包括权利要求 30 所述的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒, 所述的可吸收包裹聚合物包括:

- 20
- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
 - (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,
 - (c) d, 1-丙交酯基本单元, 或
 - (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

25 39. 根据权利要求 38 所述的包裹微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, 抑生长素类似物为: H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-



Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; 或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接, 且其中:

(a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,

5 (b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10, 和

(c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

40. 一种包裹微颗粒, 它包括权利要求 32 所述的一种或多种结合微颗粒和可吸收包裹聚合物, 所述的可吸收包裹聚合物包括:

10 (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

(b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

(c) d, 1-丙交酯基本单元, 或

(d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

41. 根据权利要求 40 所述的包裹微颗粒, 其中甘醇酸酯单元与可吸
15 收聚合物核心的酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, 抑生长素类似物为: H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接; 或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂, 其中两个 Cys 残余物通过二硫键连接, 且其中:
20

(a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,

(b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10, 和

(c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

25 42. 一种用于制备权利要求 12 所述的包裹微颗粒的方法, 其包括用

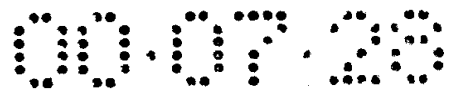
可吸收包裹聚合物包裹结合微颗粒的步骤。

43. 根据权利要求 42 所述的方法，其中所述的结合微颗粒在溶液中的分散包括将所述的可吸收包裹聚合物和一种溶剂滴在预冷却的介质上，所说的介质不是所述可吸收包裹聚合物的溶剂。

5 44. 根据权利要求 43 所述的方法，其中可吸收包裹聚合物的溶液包含约 5 % 至 30 % 可吸收包裹聚合物，预冷却介质是具有两个或更多碳原子的醇，且介质的温度为室温至约 -80°C 。

45. 根据权利要求 44 所述的方法，其中预冷却介质的温度为约 -60°C 至 -80°C ，且介质为异丙醇。

10 46. 一种制备权利要求 12 所述的包裹微颗粒的方法，它包括采用乳化技术、用可吸收包裹聚合物包裹结合微颗粒的步骤。

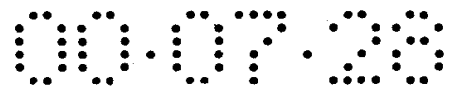


说明书

可吸收的微颗粒

5 本发明涉及一种持续释放配合物，该配合物包括固定在可选择地具有可吸收聚合物包被的可吸收聚合物微颗粒上的一种或多种肽、一种或多种蛋白质、或者其组合物。本发明的微颗粒配合物包括：肽（类）和/或蛋白质（类），其每个分子具有至少一个氨基和/或一个羧基；且可吸收的聚酯固体微颗粒具有足量的、结合到肽（类）和/或蛋白质（类）的
10 表面和次表面的羧基或氨基，以使固定化肽（类）或蛋白质（类）占微颗粒配合物总量的 0.1%—30%。这种具有固定化肽（类）和/或蛋白质（类）的微颗粒配合物还可以进一步用可吸收聚合物选择地进行单个包裹或按组包裹，以便进一步控制固定化肽（类）和/或蛋白质（类）的
15 释放。为了进一步控制固定化肽（类）和/或蛋白质（类）的释放，该包裹微颗粒加入到具有可吸收胶凝液体的组合物中，在生物环境中与水接触后能转化成柔性凝胶或半固体物。

用于在体内控制药物组合物释放的许多药物传送系统已经被发现、试验和利用。例如，已经将聚(DL-乳酸)、聚(乙醇酸)、聚(ϵ -己内酯)之类的聚酯和其它各种共聚物用于释放生物活性分子，如孕酮；已将它
20 们制成微胶囊、片或棒的形式（M. Chasin 和 R. Langer, 编辑，《作为药物传送系统的生物降解聚合物》，Dekker, 纽约, 1990）。通过植入聚合物/治疗剂组合物，例如皮下或肌肉内植入，这种治疗剂可在一段特殊时期内释放。将这种生物相容性生物降解聚合系统设计成允许被截留的治疗剂从聚合物基质中扩散。通过治疗剂的释放，截去的治疗剂在体内降
25 解，避免了植入的外科去除。虽然对截去剂降解起作用的因素不是很清



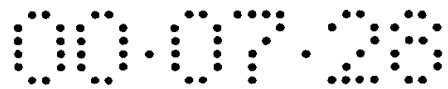
楚，但一般认为这种聚酯的降解可以通过酯键易受聚合成分的非酶自动催化水解的影响这一特性来进行调节。

一些 EPO 公开出版物和美国专利已论述了有关聚合物基质设计及其在调节治疗剂的体内释放速度和程度的问题。

5 例如，Deluca（EPO 出版物 0 467 389 A2）描述了疏水生物降解聚合物与蛋白质或肽之间的物理相互作用。所形成的组合物是治疗剂与疏水聚合物的混合物，将这种组合物给患者使用后，可以持续从该基质中分散释放。

10 Hutchinson（美国专利号 4,767,628）通过聚合装置中的均匀分散来控制治疗剂的释放。其中公开了这种制剂通过以下两个阶段的叠加达到控制持续释放：首先，是药物从制剂表面的分散依赖性滤除；其次，是通过由聚合物的降解产生的含水途径释放。

15 在 Dunn 等的美国专利号 5,278,201（'201 专利）和 5,077,049（'049 专利）中描述了其它就地形成的生物降解植入法及其形成方法。Dunn 等的专利公开了有助于恢复牙周囊中的牙周组织的方法，和防止牙的根表面周围的上皮细胞移动的方法。该'049 专利公开了在与牙表面相邻处放置一种就地形成的生物降解屏障的方法。这种屏障呈微孔状，包括各种确定大小的微孔，也可包括生物活性剂。这种屏障是通过以下方法形成的：即将一种生物降解聚合物如聚（dl-丙交酯-共-乙交酯）的液体溶液放
20 在牙周囊中，这种生物降解聚合物在可与水混合的无毒有机溶剂如 N-甲基吡咯烷酮（即聚合物的浓度达约 50%）中具有可在水中凝固和热塑的特性。这种有机溶剂分散在牙周液和生物降解的、可在水中凝固的聚合物中形成一种就地形成的固体生物降解植入。在这种固体生物降解植入中，溶剂的这种分散产生微孔，从而促进细胞生长。该'859 专利也公开
25 了从生物降解的可治愈的热固预聚物、治愈剂和水溶性物质如盐、糖、



以及水溶性聚合物的液体混合物形成生物降解屏障的方法。这种可治愈热固预聚物被称作末端为丙烯酸酯的可吸收聚合物。

另外，文献中公开了许多控制生物活性化合物在不同部位的传送的系统。例如，Fujioka 等的美国专利号 5,011,692 公开了一种持续脉冲样释放药物制剂，它包括含药物的聚物质层。这种聚物质层仅仅含有微量药物、或者不含药物。整个表面沿垂直于平面层的方向延伸，并且被不溶于水的聚物质涂覆。这些类型的脉冲样释放药剂适用于皮肤下包埋。

Chesterfield 等的美国专利号 5,366,756 描述了制备多孔、可生物吸收的外科植入的物质的方法。这种方法包括：提供一定量的可生物吸收的植入物质的颗粒和具有至少一种生长因子的可生物吸收的植入物质的包被颗粒。该植入物也可含有抗菌剂。

Yamhira 等的美国专利号 5,385,738 公开了一种持续释放注射系统，其包括一种用于注射的粉末悬浮液，这种悬浮液含有存在于粘性溶剂（如植物油、聚乙二醇、丙二醇、硅油和中链脂肪酸甘油三酯）中的活性成分和药物上可接受的生物降解屏障（如蛋白质、多糖和合成的高分子化合物，优选胶原蛋白、不全胶原蛋白、明胶、及其混合物）。药物制剂中的这种活性成分是以下列状态式加入到在生物降解屏障中的：

(i) 活性成分与屏障基质化学结合；(ii) 活性成分通过分子间作用与屏障结合；(iii) 活性成分被物理包围在屏障基质中。

而且，前面文献例如 Dunn 等（美国专利号 4,938,763）所述的这些系统，指导了通过聚合物溶液在有机溶剂如 N-甲基-吡咯烷酮中的凝固、从而在生物体内就地形成可生物降解的微孔固体植入物。然而，使用包括那些低分子有机溶剂在内的溶剂可促进溶液从应用部位的移动，从而导致对活体组织的破坏，包括细胞脱水和坏死。溶剂的大量丢失可



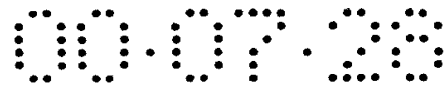
引起凝固物萎缩和与周围组织分离。

美国专利号 5,612,052 描述了使由带羧基的聚酯链形成的阳离子交换微颗粒固定，该聚酯链上含有基本活性剂，以提供一种含有可吸收的胶凝液体聚酯的控制释放系统。美国专利号 5,612,052 的内容在此引作
5 参考。在美国专利号 5,672,659 和美国专利号 5,665,702 等现有技术中记载了羧酸体与碱性多肽的离子共轭作用。但是，这些配合物是可溶性化学体，它是通过各自溶液中的单个碱性成分和羧酸成分的分子反应形成的，生成一种确定的离子共轭体，其作为一种具有理化特性的新化学体。与本发明的区别之处在于，本发明的配合物是在包括初级表面配合
10 物形成的多相系统中形成的。

本发明涉及一种结合微颗粒，它包括一种可吸收杂链聚合物核心及其固定在所述的可吸收杂链聚合物核心上的一种或多种肽、一种或多种蛋白质或其混合物。

其中每一种肽分别选自由以下所组成的组：生长激素释放肽
15 (GHRP)、促黄体素释放激素(LHRH)、抑生长素、铃蟾肽、胃泌素释放肽(GRP)、降钙素、缓激肽、galanin、促黑激素(MSH)、生长激素释放因子(GRF)、糊精、速激肽、胰泌素、甲状旁腺素(PTH)、脑啡肽、内皮素、降钙素基因释放肽(CGRP)、神经调节肽、甲状旁腺素相关蛋白质(PTHrP)、胰高血糖素、神经降压肽、促肾上腺皮质激素
20 素(ACTH)、YY肽(PYY)、胰高血糖素释放肽(GLP)、血管活性肠肽(VIP)、垂体腺苷酸酯环化酶活性肽(PACAP)、促胃动素、P物质、神经肽Y(NPY)、促甲状腺激素以及其类似物和片段或其药物上可接受的盐；和

其中每一种蛋白质分别选自由以下所组成的组：生长激素、促红细胞生
25 成素、粒细胞集落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子和干扰素。



刚才前面所述的一种优选的结合微颗粒称作 B 组，其中所述的肽、蛋白质或其混合物或其药物上可接受的盐占该结合微颗粒总量的 0.1%-30%。

刚才前面所述的一种优选的结合微颗粒称作 C 组，其中所述的可吸收杂链聚合物核心包括甘醇酸酯单元。

5 刚才前面所述的一种优选的结合微颗粒称作 D 组，其中所述的可吸收杂链聚合物核心进一步包括柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物。

10 刚才前面所述的一种优选的结合微颗粒称作 E 组，其中甘醇酸酯单元与柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1。

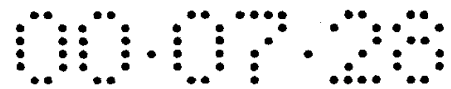
C 组另一种优选的结合微颗粒是其中所述的甘醇酸酯单元的末端具有羧基部分的微颗粒。

C 组另一种优选的结合微颗粒是其中所述的甘醇酸酯单元的末端为胺部分的微颗粒。

15 另一方面，本发明提供了一种包裹微颗粒，它包括一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒。

其中所述的结合微颗粒包括可吸收杂链聚合物核心及其固定在所述的吸收杂链聚合物核心上的一种或多种肽、一种或多种蛋白质或其混合物。

20 其中每一种肽分别选自由以下所组成的组：生长激素释放肽（GHRP）、促黄体素释放激素（LHRH）、抑生长素、铃蟾肽、胃泌素释放肽（GRP）、降钙素、缓激肽、galanin、促黑激素（MSH）、生长激素释放因子（GRF）、糊精、速激肽、胰泌素、甲状旁腺素（PTH）、脑啡肽、内皮素、降钙素基因释放肽（CGRP）、神经调节肽、甲状旁腺素相关蛋白质（PTHrP）、胰高血糖素、神经降压肽、促肾上腺皮质激素（ACTH）、YY 肽（PYY）、胰高血糖素释放肽（GLP）、血管活性
25



肠肽（VIP）、垂体腺苷酸酯环化酶活性肽（PACAP）、促胃动素、P物质、神经肽Y（NPY）、促甲状腺激素及其类似物和片段或其药物上可接受的盐；

5 每一种蛋白质分别选自由以下所组成的组：生长激素、促红细胞生成素、粒细胞集落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子和干扰素；和其中上述的可吸收杂链聚合物核心包括甘醇酸酯单元。

一种刚才所述优选的包裹微颗粒是，其中所述的肽、蛋白质或其混合物或其药物上可接受的盐占该结合微颗粒总量的0.1%-30%，且其中所述的可吸收的杂链聚合物核心进一步包括柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物。

10

一种刚才所述优选的包裹微颗粒称作F组，其中甘醇酸酯单元与柠檬酸酯残余物、酒石酸酯残余物或苹果酸酯残余物的比例为约7-1:约20-1，且所述的甘醇酸酯单元的末端为羧基部分或胺部分。

一种刚才所述优选的包裹微颗粒是，其中所述的可吸收包裹聚合物包括：

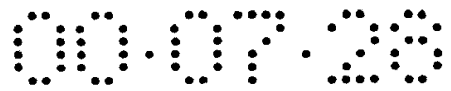
15

- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- (c) d, 1-丙交酯基本单元，或
- (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

20 一种刚才所述优选的包裹微颗粒是，其中1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约75-25:约90-10，1-丙交酯基本单元与d, 1-丙交酯基本单元的比例为约80-20，且d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约75-25:约90-10。

F组的一种优选的包裹微颗粒是，其中所述的可吸收包裹聚合物占该包裹微颗粒总量的5%-70%。

25



刚才前面所述一种优选的包裹微颗粒是，其中所述可吸收包裹聚合物占该包裹微颗粒总量的 20-60%。

刚才前面所述一种优选的包裹微颗粒是，其中所述的可吸收包裹聚合物占该包裹微颗粒总量的 30-50%。

5 另一方面，本发明提供了一种药物组合物，它包括上述结合微颗粒和药物上可接受的载体。

另一方面，本发明提供了一种药物组合物，它包括上述结合微颗粒、一种非水可吸收胶凝液体聚酯和任一药物上可接受的载体。

10 另一方面，本发明提供了一种药物组合物，它包括上述包裹微颗粒和药物上可接受的载体。

另一方面，本发明提供了一种药物组合物，它包括上述包裹微颗粒、一种非水可吸收胶凝液体聚酯和任一药物上可接受的载体。

D 组另一种优选的结合微颗粒称作 G 组，其中可吸收杂链聚合物核心包括柠檬酸酯残余物，且肽是 LHRH 类似物。

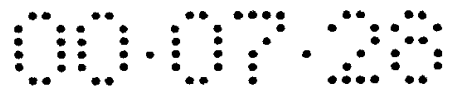
15 刚才前面所述的一种优选的结合微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与可吸收杂链聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，其中 LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂。

D 组另一种优选的结合微颗粒称作 H 组，其中可吸收杂链聚合物核心包括酒石酸酯残余物，且肽是 LHRH 类似物。

20 刚才前面所述一种优选的结合微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，且 LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂。

D 组另一种优选的结合微颗粒称作 I 组，其中可吸收杂链聚合物核心包括柠檬酸酯残余物，且肽是抑生长素类似物。

25 刚才前面所述一种优选的结合微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与柠檬



酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，且抑生长素类似物为：H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基
5 -Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接。

D 组另一种优选的结合微颗粒称作 J 组，其中可吸收杂链聚合物核心包括酒石酸酯残余物，且肽是抑生长素类似物。

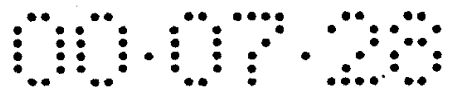
刚才前面所述一种优选的结合微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与酒石
10 酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，且抑生长素类似物为：H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基
-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键
15 连接。

一种优选的本发明包裹微颗粒是包括 G 组的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒，其中所述的可吸收包裹聚合物包括：

- (a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
- 20 (c) d, 1-丙交酯基本单元，或
- (d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

刚才前面所述一种优选的包裹微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂，其中：

- 25 (a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10，



(b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10, 和

(c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

5 另一种优选的包裹微颗粒包括 H 组的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒, 其中所这的可吸收的包裹聚合物包括:

(a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

(b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

(c) d, 1-丙交酯基本单元, 或

(d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

10 刚才前面所述一种优选的包裹微颗粒是, 其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, LHRH 类似物为 p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, 其中:

(a) 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,

15 (b) d, 1-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10,

(c) 1-丙交酯基本单元与 d, 1-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

另一种优选的包裹微颗粒包括 I 组的一种或多种包裹在可吸收包裹聚合物中的结合微颗粒, 其中所述的可吸收包裹聚合物包括:

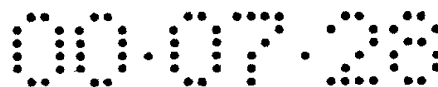
(a) 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

20 (b) d, 1-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元,

(c) d, 1-丙交酯基本单元, 或

(d) 1-丙交酯基本单元和 d, 1-丙交酯基本单元。

25 刚才前面所述另一种优选的包裹微颗粒是, 其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的柠檬酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1, 抑生长素类似物为: H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂, 其中两



个 Cys 通过二硫键连接； N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接，且其中：

- 5 (a) l-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10，
(b) d, l-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10，
(c) l-丙交酯基本单元与 d, l-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。

10 另一种优选的包裹微颗粒包括 J 组的一种或多种结合微颗粒和可吸收包裹聚合物，所述的可吸收包裹聚合物包括：

- (a) l-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
(b) d, l-丙交酯基本单元和乙交酯基本单元，
(c) d, l-丙交酯基本单元，或
(d) l-丙交酯基本单元和 d, l-丙交酯基本单元。

15 刚才前面所述一种优选的包裹微颗粒是，其中甘醇酸酯单元与可吸收聚合物核心的酒石酸酯残余物的比例为约 7-1:约 20-1，抑生长素类似物为：H-β-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接； N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接；或 N-羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂，其中两个 Cys 通过二硫键连接，且其中：

- 20 (a) l-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10，
(b) d, l-丙交酯基本单元与乙交酯基本单元的比例为约 75-25:约 90-10，
25 (c) l-丙交酯基本单元与 d, l-丙交酯基本单元的比例为约 80-20。



另一方面，本发明提供了一种用于制备上述的包裹微颗粒的方法，其包括用可吸收包裹聚合物包裹结合微颗粒的步骤。

前面所述的一种优选方法是，其中所述结合微颗粒在溶液中的分散包括将所述的可吸收包裹聚合物和溶剂滴在预冷却的介质上，其中所说的介质不是所述的可吸收包裹聚合物的溶剂。

前面所述的一种优选方法是，其中可吸收包裹聚合物溶液包裹约 5%—30%可吸收包裹聚合物，预冷却介质是具有两个或多个碳原子的醇，且介质的温度为室温至约-80℃。

前面所述的一种优选方法是，其中预冷却介质的温度为约-60℃—-80℃，且介质为异丙醇。

此外，另一方面，本发明提供了一种用于制备上述的包裹微颗粒的方法，它包括采用乳化技术、用可吸收包裹聚合物包裹结合微颗粒的步骤。

本文所用的术语“可吸收的”意指不溶于水的物质如聚合物，其经过生物环境中的链离解作用变成可溶于水的副产物。

本文所用的术语“微颗粒”意指可吸收的聚酯颗粒，其中优选实际上为球形者。

本文所用的术语“结合微颗粒”意指具有以离子形式固定在微颗粒上的一种或多种肽和/或一种或多种蛋白质的微颗粒。

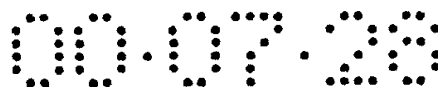
本文所用的术语“包裹微颗粒”意指具有聚合物包被的结合微颗粒，这种聚合物包被不是必须完全闭合。

本文所用的术语“聚合物核心”，是表示微颗粒的另一种方式。

本文所用的术语“包裹聚合物”意指用于包裹结合微颗粒的聚合物。

本文所用的术语“胶凝液体聚酯”意指吸收水之类的溶剂、进行相转化和维持能产生可逆形变的三维网络的物质。

本发明用本领域已知的标准的三个缩写字母来表示氨基酸，例如，



Ala = 丙氨酸。

本发明的微颗粒是结晶微颗粒，由可吸收的聚酯形成，例如在单链上具有一个或多个羧基的聚乙交酯，其可在微颗粒的表面和微颗粒的瞬间次表面上形成足够浓度的羧基，以对具有一个或多个碱性基团的肽（类）和/或蛋白质（类）进行络合和离子固定。或者，例如可通过二胺、优选伯胺或仲胺或其混合物，使聚乙交酯的羧基酰胺化，其中所述的胺形成一种对具有一个或多个酸性基团的肽（类）和/或蛋白质（类）进行离子固定的配合物。由于这种微颗粒的表面不必均匀，因此术语“次表面”是指在微颗粒表面发现的裂隙，等等。这种结合微颗粒提供了一种控制肽（类）和/或蛋白质（类）在病人身上的释放的方法。为了进一步控制固定化肽（类）和/或蛋白质（类）的释放，可用可吸收聚合物包被对结合微颗粒进行单个包裹或按组包裹。这种结合微颗粒可使肽（类）和/或蛋白质（类）在病人身上释放约两天至三个月的时间，优选约一周至三个月。这种包裹微颗粒可使肽（类）和/或蛋白质（类）在病人身上释放约三天至六个月，优选约两周至五个月的时间。

可固定在微颗粒上的肽的典型例子包括但不限于：生长激素释放肽（GHRP）、促黄体素释放激素（LHRH）、抑生长素、铃蟾肽、胃泌素释放肽（GRP）、降钙素、缓激肽、galanin、促黑激素（MSH）、生长激素释放因子（GRF）、糊精、速激肽、胰泌素、甲状旁腺素（PTH）、脑啡肽、内皮素、降钙素基因释放肽（CGRP）、神经调节肽、甲状旁腺素相关蛋白质（PTHrP）、胰高血糖素、神经降压肽、促肾上腺皮质激素（ACTH）、YY肽（PYY）、胰高血糖素释放肽（GLP）、血管活性肠肽（VIP）、垂体腺苷酸酯环化酶活性肽（PACAP）、促胃动素、P物质、神经肽Y（NPY）、促甲状腺激素、及其类似物和片段。可固定在微颗粒上的蛋白质的例子有：生长激素、促红细胞生成素、粒细胞集

落刺激因子、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子和干扰素。

微颗粒可以由基于丙交酯的聚合物或固体半结晶聚内酯如聚乙交酯制成，这种固体半结晶聚内酯可通过带有酸的羟基的引发剂如乙醇酸、乳酸、苹果酸酯、酒石酸酯和柠檬酸酯的开环聚合作用而形成。本发明的微颗粒可通过下列方法合成。将基于单体和/或内酯如乙交酯和酸引发剂如酒石酸、苹果酸或柠檬酸置于反应容器中混合。将反应容器加热至约 35-45 °C，优选 40 °C，在真空中放置约 20-60 分钟，优选 30 分钟。将反应容器温度升至约 105-115 °C，优选 110 °C。一旦达到这一温度，则将容器放在无氧氮气中，并搅拌混合物。一旦混合物熔化后，立即加入催化量的适用于开环聚合作用的有机金属催化剂，例如非质子溶剂如加入甲苯的 2-乙基-己酸亚锡酯溶液。再使用约 30-90 秒真空，以去除甲苯，但不会明显去除单体。经约 5-10 分钟使该混合物的温度升至约 115-125 °C，优选 120 °C。然后将该混合物的温度进一步升至 145-150 °C，在不断的机械搅拌下，使这一温度保持约 3-5 小时，优选 4 小时。

使用 Knife 通过研磨机初步研磨使得到的聚合物成为微小颗粒。然后，用加压干氮气流、在 Aljet Micronizer 中将该聚合物微粒化。使用体积分布模型和用 200/5 cS 硅油作为分散剂，在 Malvern Mastersizer/E 中对平均颗粒直径大小进行分析。

纯化该聚合物，并通过将微粒化聚合物分散在丙酮中，再在超声发生器中放置，优选约 30 分钟，这样得到该聚合物钠盐。在此期间，也可用均化器在约 8,000-24,000 rpm，优选 9,500 rpm 的速度下使分散体均化。经超声处理/均化步骤后，优选经约 30 分钟将分散体在离心机中以约 3,000-7,000 rpm 的速度离心，优选 5,000 rpm。去掉上清液，将离心饼再次悬浮于新鲜丙酮中，重复超声处理/均化步骤。一旦第二次离心结束，去掉上清液，将该离心饼再次悬浮于去离子水中。然后进行最后

一次超声处理/均化步骤，以去除任何残留的丙酮，将分散体再以约 5,000 rpm 的速度离心约 30 分钟。

5 将离心饼再次悬浮于新鲜的去离子水中，监测分散体的 pH。加入足够体积的弱碱如 0.2M 碳酸钠溶液，同时搅拌，以使 pH 升至约 pH 8-pH 9 之间。在通过滤纸过滤之前，将分散体搅拌约 30 分钟。进一步用去离子水冲洗滤饼，然后将其冻结和冻干。

用差示扫描量热法（DSC），以约 5 °C/分钟—15 °C/分钟的加热速度，优选 10 °C/分钟，监测纯化过程。

10 通过将阳离子交换微颗粒在二胺的热稀释溶液（约 80 °C）中温育可得到阴离子交换微颗粒，所述的胺优选可以是两种伯胺或两种仲胺或伯胺与仲胺的混合物的这种胺，此胺在惰性气体如氩中、在二恶烷或 THF 中的浓度是已知的。通过酸量滴定法测定二恶烷或 THF 中的二胺的浓度。当反应实际停止时，通过过滤分离酰胺化的微颗粒、用二恶烷或 THF 冲洗，并在减压下干燥。

15 根据下列方法可将肽（类）和/或蛋白质（类）固定在微颗粒上。将微颗粒的钠盐分散在含有无碱、溶于水的肽（类）和/或蛋白质（类）的溶液中。在滤出结合微颗粒之前，将分散液在室温下温育、并同时搅拌 2 小时。进一步用去离子水冲洗滤饼、然后将其冻结和冻干。然后通过元素分析来分析样本中的氮、以测定被固定的肽（类）和/或蛋白质（类）
20 的数量。

微颗粒的大小可影响肽和/或蛋白质的数量，这种肽和/或蛋白质可被微颗粒固定。微颗粒的尺寸越小，微颗粒群则具有更大的表面积，因而每个微颗粒群可固定更多的肽和/或蛋白质。按照上述方法可使微颗粒的直径大小减至微米或亚微米。微颗粒的直径范围可以是约 0.5 μ m 至
25 100 μ m，优选 1 μ m 至 15 μ m，更优选 3 μ m 至 10 μ m。

可吸收包裹微颗粒可以是结晶或非结晶的丙交酯/乙交酯共聚物、非晶 1-丙交酯/d, 1-丙交酯共聚物、己内酯/乙交酯共聚物或碳酸亚丙基酯/乙交酯共聚物，它们在下列习用的有机溶剂中是可溶的，例如氯仿、二氯甲烷、丙酮、乙腈、乙酸乙酯和甲酸乙酯。这些可吸收包裹聚合物的非溶剂包括：水、低沸点醇和烃。这些可吸收包裹聚合物可通过催化内酯的开环聚合作用合成；或在链引发剂如羟聚羧酸存在下，通过环状单体的聚合作用合成，这些单体例如有 ϵ -己内酯、对二恶烷酮、碳酸亚丙基酯、1,5-二氧环杂庚烷-2-酮，或 1,4-二氧环杂庚烷-2-酮。还有另一种方法，即将有机聚羧酸与预先形成的聚酯反应，这种方法在美国专利号 5,612,052 中已公开，其内容在此引作参考。

可通过乳状液的相分离可实现结合微颗粒的包裹。一种可替代的包裹方法必须使用超声喷雾器，在此可吸收包裹聚合物溶液中的结合微颗粒的分散体以微液滴的形式滴在冷却的非溶剂介质中。采用传统的固体颗粒的微囊化或包被技术如乳液蒸发方法，用丙交酯和乙交酯的可吸收包裹共聚物包裹结合微颗粒，这种乳剂蒸发方法是 H. Demian 和 S. W. Shalaby 在美国专利申请 USSN: 08/467,361 中所公开的用于使硫酸钡微颗粒微囊化的方法，其内容在此引作参考；或者通过以下方法包裹结合微颗粒，即凝固包裹在聚合物溶液中的固体微颗粒、并将它通过超声喷雾器（雾化器）传送至液体介质中，这种液体介质是包裹聚合物的非溶剂，但这种非溶剂液体介质能萃取关于包裹固体微颗粒的包裹聚合物溶液中的溶剂。根据用于包裹微颗粒的聚合物溶液的浓度的不同，在包裹微颗粒中的初始结合微颗粒数量是可以从 1 至数百不等，其中包裹微颗粒的平均直径为 $0.5 \mu\text{m} - 100 \mu\text{m}$ 。

下面的方法是有关通过雾化作用来制备载肽和/或载蛋白质（以下称载肽）的包裹阳离子交换剂。将该包裹共聚物按 10-30%（W/W）之间的



浓度溶解在溶剂中，例如这种溶剂可以是乙腈、乙酸乙酯或甲酸乙酯。将足够量的这种溶液用于载肽 CE 的分散，以使载肽 CE 与包裹共聚物的重量比范围为约 30:70-约 80:20。通过高速均化达到分散。以 1ml/分钟至 10ml/分钟的流速将分散体送入频率可变的超声雾化喷嘴中，该频率可在 12 kHz 至 35 kHz 的范围内变化，较高的频率可允许较快的流速，同时可保持颗粒的特性。因此将分散体置于收集池中雾化，该收集池由含足量干冰球（通常每升 IPA 含干冰 0.5-1kg）的 1-10 倍过量的异丙醇或乙醇（与所用的包裹聚合物溶剂的体积相比）组成，以便整个雾化过程中使浆液的温度保持在 -70°C — -80°C 之间。根据浆液的体积的不同，以 300—700 rpm 的速度将其搅拌。在乙腈作溶剂的情况下，雾化液滴与浆液接触时立即将液滴冻结。雾化结束后，在真空过滤之前，立即将整个分散体在规定的 10°C 至室温的温度下使其自身熔化。用去离子水冲洗滤饼，以去除过剩的非溶剂。在主要为 d, l-丙交酯包裹共聚物的情况下，所得到的颗粒呈平滑的微球体；当这种包裹共聚物主要是基于 1-丙交酯时，该包裹共聚物会出现轻微皱褶。

微颗粒离子交换剂的结合容量可按下述方法测定。例如，对于阳离子交换剂微颗粒，用已知当量浓度的碳酸钠的稀释冷水溶液，在预定的微颗粒体中来中和可获得的羧基。通过过滤来分离这种中和的微颗粒，并用冷的去离子水彻底冲洗，再空气干燥。然后将固体微颗粒在已知浓度的毛果芸香碱盐酸盐的稀释溶液中培养，以便得到从结合容量数据预测的稍过量的碱性药物。对剩余的毛果芸香碱盐酸盐在含水介质中的浓度进行一段时间监测，直至记录到在微颗粒所吸附的碱中不出现显著变化。从得出的数据测定微颗粒上的固定碱的百数，然后通过元素分析来检验氮。

25 通过以下方法测定阴离子交换剂（酰胺化颗粒）的结合容量：（1）



氮的元素分析和 (2) 通过用 HPLC 测定稀释溶液中萘普生的去除程度而决定的与萘普生结合的程度。后者可通过用已知浓度的氢氧化钠稀释溶液的固定萘普生的释放来证实。

5 本发明的结合微颗粒或包裹微颗粒可以通过本领域普通技术人员公知的给药途径对患者给药, 例如通过肠胃外给药、口服给药或局部给药。优选以粉剂或经鼻内途径的悬浮液或通过呼吸系统吸入的方式给药。当肠胃外给药时, 优选以等渗含水介质的形式、或以描述在美国专利号 5, 612, 052 中的可吸收的胶凝非水液体聚酯中的分散体的形式给药, 其内容在此引作参考。本发明含结合微颗粒和/或包裹微颗粒的制剂还可包
10 括各种可选择的成分。这些成分包括(但不限于此,): 表面活性剂、粘度调节剂、药用试剂、细胞生长调节剂、染料、配位剂、抗氧化剂、其它聚合物如羧甲基纤维素、树胶如瓜耳树胶、蜡/油如蓖麻油、甘油、邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯, 等等。使用时, 这类可选择性成分占总制剂的约 0.1%-约 20%, 优选约 0.5%-约 5%。

15 结合微颗粒或包裹微颗粒用于患者的有效剂量可以由主治医师或兽医来确定, 它也有赖于肽(类)和/或蛋白质(类)的合适剂量和固定在微颗粒上的肽(类)和/或蛋白质(类)的数量来决定。这些剂量可以是已知的, 或也可以由本领域普通技术人员来决定。

20 在美国专利号 5, 612, 052 中公开了胶凝剂的制备, 其内容在此引作参考。胶凝剂的具体例子如下所述。

60/40 亚丙基碳酸酯/乙交酯和聚乙二醇-400 (GF-1) 的 80/20 (重量比) 嵌段共聚物的制备: 将聚乙二醇-400 (0.299 mole, 119.5 g)、辛酸亚锡 (0.2 M 的甲苯溶液, 4,700ml, 0.946 mmole)、乙交酯 (1.78 mole, 206.5g) 和碳酸亚丙基酯 (2.65mole, 270 g) 加入装有机械搅拌器和氮气
25 入口的火焰干树脂锅中。用氩冲洗反应器数次, 然后加热熔化, 再加热,



在 150 °C 下搅拌约 12 小时。反应结束时，降低温度，同时保持流动，并在减压下去除过量的单体。用红外线和 NMR 分析所得到的聚合物中的组合物，并通过凝胶渗透色谱分析其分子量。

按上述 GF-1 的方法合成 60/40 亚丙基碳酸酯/乙交酯和聚乙二醇-400 (GF-2) 的 15/85 (重量比) 嵌段共聚物，但使用的是：聚乙二醇-400 (1.063 mole, 425 g)、辛酸亚锡 (0.2 M 的甲苯溶液, 1,760ml, 0.35 mmole)、乙交酯 (0.279 mole, 32.4g) 和碳酸亚丙基酯 (0.418mole, 42.6 g)，搅拌约 9 小时。

按上述 GF-1 的方法合成 90/10 碳酸亚丙基酯/乙交酯和聚乙二醇-1500 (GF-3) 的 80/20 (重量比) 嵌段共聚物，但使用的是：聚乙二醇-1500 (0.267 mole, 400 g)、辛酸亚锡 (0.2 M 的甲苯溶液, 1,200ml, 0.247 mmole)、乙交酯 (0.097 mole, 11.2g) 和碳酸亚丙基酯 (0.87mole, 88.7 g)，搅拌约 13 小时。

实施例 I

15 用作阳离子交换剂 (CE) 的、以柠檬酸酯起始的聚(乙醇酸)共聚物 (PGCA) 的制备、微粒化和纯化

实施例 I(a)：7/1 PGCA — 将 242.63 g 乙交酯 (Purac 生化, Arkelsedijk, 荷兰) 和 57.37 g 柠檬酸酯 (Aldrich, Gillingham, Dorset, 联合国) 加入 500ml 玻璃反应器中。将柠檬酸酯通过 Abderhalden 装置 (Aldrich, St.Louis, Missouri, 美国) 中的硅胶 (Fisher Scientific, Loughborough, Leics., 联合国) 进一步干燥。将反应器浸在约 40 °C 的油浴器中，并置于真空 (0.04 mbar) 约 30 分钟。然后降低浴器，将其温度升至约 110 °C。一旦达到此温度，则将反应器置于无氧氮气中，再浸渍。用 Heidolph 搅拌器 (Heidolph Elektro GmbH, kelheim, 德国) 以约 100 rpm 的速度搅拌反应器中的内容物。反应器中的内容物熔化后，立即加



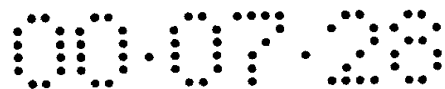
入(化学计量比 50 ppm)1.09 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡(Sigma, St. Louis Missouri, 美国)的甲苯(Riedel de-Haen, Seelze, 德国)溶液。通过一种液氮阱再使用真空约 30 秒, 以去除甲苯, 但不会明显去除单体。在将油浴温度升至 150 °C 之前, 将该油浴温度升至约 120 °C, 保持 5 分钟, 然后将该油浴温度升至 150 °C, 接着在约 100 rpm 的恒定机械搅拌下保持该温度约 4 小时。得到标题聚合物。

实施例 I(b): 10/1 PGCA — 按实施例 Ia 所述的方法得到标题聚合物, 但使用的是: 257.40 g 乙交酯、42.60 g 柠檬酸酯和 1.10 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡的甲苯溶液(化学计量比 50 ppm)。

实施例 I(c): 15/1 PGCA- 15/1 PGCA- 将乙交酯(2.586 mole, 300 g)、无水柠檬酸酯(0.172 mole, 33 g)和辛酸亚锡(0.2 M 的甲苯溶液, 862ml, 0.172 mmole) 加入装有机械搅拌器和氩气入口的火焰干树脂锅中。用干氩冲洗聚合反应器及其内容物数次。聚合原料熔化后, 将反应物加热、并在约 160 °C 下搅拌直至聚合物开始从熔化物沉淀出来。部分沉淀后不久, 停止搅拌, 在约 160 °C 继续反应约 2 小时。聚合反应结束时, 将温度降至低于 120 °C, 并在减压下去除过量的单体。用红外线和 NMR 光谱检验被分离的聚合物中的组合物。

微粒化作用—用 Knife 研磨机(IKA, Staufen, 德国)将实施例 I(a)、I(b)和 I(c)的每个聚合物初步研碎。然后使用加压干氮气流在 Aljet 粉碎机(Fluid Engery Aljet, Plumsteadsville, Pennsylvania, 美国)中将它们粉碎。采用体积分布模型和 200/5 cS 硅油(Dow Corning, Senefeffe, 比利时)作为分散剂、通过 Malvern Mastersizer/E(Mavern, Worcs., 联合国)中的分析, 实施例 I(a)的平均颗粒直径大小为 24.84 μ m。粉碎后, 实施例 I(b)和 I(c)的平均颗粒直径大小分别为 4.69 μ m 和 6.31 μ m。

纯化/钠盐形成—将每批容量为 50 g 的实施例 I(a)、I(b)和 I(c)



分散在 2L 的丙酮 (Riedel de-Haen, Seelze, 德国) 中, 并置于近程声电定位器 (Branson Ultrasonics BV, Soest, 荷兰) 中约 30 分钟。在此期间, 用 Ultra-turrax T25 均化器 (IKA, Staufen, 德国) 以 9,500 rpm 的速度均化该分散体。经此超声处理/均化步骤后, 将分散体在 Sorvall 离心机 (Sorvall, Wilmington, Delaware, 美国) 中以 5,000 rpm 的速度离心约 30 分钟。去掉上清液, 将离心饼再悬浮于新鲜丙酮中, 重复超声处理/均化步骤。一旦第二次离心结束, 去掉上清液, 将离心饼再悬浮于去离子水中。然后进行最后一次超声处理/均化步骤, 以去除任何剩余的丙酮, 并再将分散体以 5,000 rpm 的速度离心约 30 分钟。

10 将离心饼再悬浮于新鲜去离子水中, 监测分散体的 pH。在每一反应箱 (带有搅拌) 中加入足够体积的 0.2 M 碳酸钠溶液, 以使 pH 升至约 pH8 致约 pH9 之间。在经 Whatman 1 号 (直径 24cm) 滤纸 (Whatman 国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国) 真空过滤之前, 将分散体搅拌约 30 分钟。用去离子水进一步冲洗滤饼, 将其冻结, 并在 Edwards SuperModulyo 冻干器 (Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国) 冻干。

用加热速率为 10 °C/分钟的 TA DSC912S (TA 仪器, New Castle, Delaware, 美国)、通过差示扫描量热法 (DSC) 监测纯化过程。每个箱中所得到的 DSC 的温谱差热图没有出现任何单体乙交酯的吸热峰, 但实施例 I(a)、I(b) 和 I(c) 分别在 176 °C、178 °C 和 180 °C 出现吸热。

20

实施例 II

乙交酯/苹果酸酯共聚物 PAMA 的微颗粒阳离子交换剂的制备

按实施例 I(c) 所述的方法合成标题微颗粒, 但使用的是: 乙交酯 (2.586 mole, 300 g)、无水苹果酸酯 (0.172 mole, 23 g) 和辛酸亚锡 (0.2 M 的甲苯溶液, 862ml, 0.172 mmole)。差示扫描量热法用于测定聚合物的熔化温度 ($T_m=206\text{ °C}$)。

25



用 Wiley 碾磨机将固体聚合物粉碎得到平均颗粒直径约 $125 \mu\text{m}$ 。用具有加压干氮的喷射式碾磨机进一步将颗粒大小减至直径约 $5-10 \mu\text{m}$ 。用丙酮冲洗得到的微颗粒以去除微量单体和低分子量低聚物。然后将产品在减压下于 40°C 干燥、直至使用。用粒度分析仪测定干微颗粒的平均直径。

实施例 III

用作阳离子交换剂(CE)的、以酒石酸酯起始的聚(乙醇酸)共聚物(PGTA)的制备、微粒化和纯化

实施例 III(a): 10/1 PGTA — 将 264.63 g 乙交酯(Purac 生化, Arkelsedijk, 荷兰)和 34.22 g L-酒石酸酯(Riedel de-Haen, Seelze, 德国)加入到 500ml 玻璃反应器中。将酒石酸酯通过 Abderhalden 装置(Aldrich, St. Louis, MO)中的硅胶(Fisher Scientific, Loughborough, Leics., 联合国)进一步干燥。将反应器浸在约 40°C 的油浴器中, 并置于真空(0.04 mbar)约 30 分钟。然后降低浴器, 将其温度升至约 110°C 。一旦达到此温度, 则将反应器置于无氧氮气中, 再浸渍。用 Heidolph 搅拌器(Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, 德国)以约 100 rpm 的速度搅拌反应器中的内容物。反应器中的内容物熔化后, 立即加入(化学计量比 50 ppm)1.14 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡(Sigma, St. Louis Missouri, 美国)的甲苯(Riedel de-Haen, Seelze, 德国)溶液。通过一种液氮阱再使用真空约 30 秒, 以去除甲苯、但不会明显去除单体。在将油浴温度升至至约 120°C 、保持 5 分钟。然后进一步将该油浴温度升至约 150°C , 然后在约 100 rpm 的恒定机械搅拌下保持该温度约 4 小时。得到标题聚合物。

微粒化作用—用 Knife 研磨机(IKA, Staufen, 德国)将实施例 III(a)的聚合物初步研碎。然后使用加压干氮气流在 Aljet 粉碎机(Fluid Engery Aljet, Plumsteadsville, Pennsylvania, 美国)中将它们粉碎。



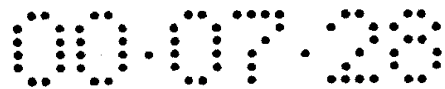
采用体积分布模型和 200/5 cS 硅油 (Dow Corning, Seneffe, 比利时) 作为分散剂, 通过 Malvern Mastersizer/E (Mavern, Worcs., 联合国) 中的分析, 得到平均颗粒直径大小为 12.42 μ m。

5 纯化/钠盐形成—将一批 50 g 的实施例 III(a) 分散在 2L 的丙酮 (Riedel de-Haen) 中, 并置于近程声电定位器 (Branson Ultrasonics BV, Soest, 荷兰) 中约 30 分钟。在此期间, 用 Ultra-turrax T25 均化器 (IKA, Staufen, 德国) 以 9,500 rpm 的速度均化该分散体。经此超声处理/均化步骤后, 将该分散体在 Sorvall 离心机 (Sorvall, Wilmington, Delaware, 美国) 中以约 5,000 rpm 的速度离心约 30 分钟。
10 去掉上清液, 将离心饼再悬浮于新鲜丙酮中, 重复超声处理/均化步骤。一旦第二次离心结束, 去掉上清液, 将离心饼再悬浮于去离子水中。然后进行最后一次超声处理/均化步骤, 以去除任何剩余的丙酮, 并将分散体以约 5,000 rpm 的速度离心约 30 分钟。

15 将离心饼再悬浮于新鲜去离子水中, 监测分散体的 pH。加入足够体积的 0.2 M 碳酸钠溶液以使 pH 升至约 pH 8 — pH 9 之间。在经 Whatman 1 号 (直径 24cm) 滤纸 (Whatman 国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国) 真空过滤之前, 将分散体搅拌约 30 分钟。用去离子水进一步冲洗滤饼、冻结、并在 Edwards SuperModulyo 冻干器 (Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国) 中冻干。

20 用加热速度为约 10 $^{\circ}$ C/分钟的 TA DSC912S (TA 仪器, New Castle, Delaware, 美国)、通过差示扫描量热法 (DSC) 监测纯化过程。所得到的 DSC 温谱差热图没有出现单体乙交酯的任何吸热峰、但在 181 $^{\circ}$ C 出现吸热。

25 实施例 III(b): 15/1 PGTA —按实施例 I(c) 所述的方法合成标题聚合物, 但使用的是: 乙交酯 (2.586 mole, 300 g)、无水酒石酸酯 (0.172 mole, 26.8 g) 和辛酸亚锡 (0.2 M 的甲苯溶液, 862ml, 0.172 mmole)。



差示扫描量热法用于测定聚合物的熔化温度($T_m=204\text{ }^\circ\text{C}$)。

用 Wiley 碾磨机将固体聚合物粉碎得到平均颗粒直径约 $125\text{ }\mu\text{m}$ 。用具有加压干氮气的喷射式碾磨机进一步将颗粒大小减至直径约为 $5\text{--}10\text{ }\mu\text{m}$ 。用丙酮冲洗所得到的微颗粒以去除微量单体和低分子量低聚物。然后将产品在减压下于约 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥、直至使用。用粒度分析仪测定干微颗粒的平均直径。

实施例 IV

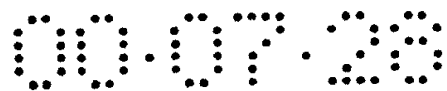
基于聚乙交酯的微颗粒阴离子交换剂(AE-1)的制备

分两步完成阴离子交换剂的制备。首先，按实施例 I(c)所述的类似方法制备低分子量聚乙交酯，但使用的是下列聚合原料：乙交酯(1 mole, 116 g)、作为引发剂的 1,3-丙二醇(30 mole, 2.22 g)和辛酸亚锡(0.03 mmole)。然后还按实施例 I(c)所述的方法降低聚合物的大小和纯化聚合物。第二步，在氩气存在下、将非离子微颗粒置于已知浓度的二胺如己二胺的二恶烷热稀释溶液(约 $80\text{ }^\circ\text{C}$)中培养。通过酸量滴定法测定二恶烷中的二胺浓度。当反应实际上停止时，通过过滤来分离酰胺化微颗粒，并用二恶烷冲洗，并在减压下干燥。通过以下测定阴离子交换剂(酰胺化颗粒)的结合容量：(1)氮的元素分析和(2)通过用 HPLC 测定从稀释溶液中去除药物的程度而决定的与萘普生结合的程度。后者可通过具有已知浓度的氢氧化钠稀释溶液的固定萘普生的释放来证实。

实施例 V

用作包裹材料的以丙二醇起始的聚(丙交酯共乙交酯)共聚物(PLGPD)的制备

实施例 V(a)：75/25 P(1)LGPD — 将 235.01 g 1-丙交酯(Purac 生化, Arkelsedijk, 荷兰)、63.09 g 乙交酯(Purac 生化, Arkelsedijk, 荷兰)和 1.90 g 丙二醇(Riedel de-haen, Seelze, 德国)加入到 500ml



玻璃反应器中，然后加入(化学计量比 200 ppm) 3.96 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡(Sigma, St. Louis Missouri, 美国)的甲苯(Riedel de-Haen, Seelze, 德国)溶液。在真空中干燥约 1 小时以去除甲苯之后，将反应器置于无氧的氮气中并浸在约 160 °C 的预热油浴器中。用 Heidolph 搅拌器 (Heidolph Elektro GmbH, kelheim, 德国)以约 100 rpm 的速度搅拌反应器的内容物。一旦反应器中的内容物熔化后，将温度升至约 180 °C，并保持该温度约 3 小时。得到一种非晶态共聚物。采用 Wyatt Minidawn 光散射检测器(Wyatt 技术公司, Santa Barbara, 加利福尼亚, 美国)上的光散射检测，通过 Waters 510 泵、Waters 410 差示折光计 (Waters, Milford, Massachusetts, 美国)上的凝胶渗透色谱(GPC)，发现该共聚物的分子量(MW) 为约 12,500 g/mol。

实施例 V(b): 90/10 P(1)LGPD—按实施例 V(a)所述的方法合成标题产品，但使用的是：274.31 g 1-丙交酯、24.55 g 乙交酯、1.14 g 丙二醇和 3.89 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡的甲苯溶液(化学计量比 200 ppm)。得到结晶共聚物。通过 GPC 发现该共聚物的分子量为约 20,780 g/mol。

实施例 V(c): 90/10 P(d, 1)LGPD—按实施例 V(a)所述的方法合成标题产品，但使用的是：274.31 g d, 1-丙交酯、24.55 g 乙交酯、1.14 g 丙二醇和 3.86 ml 的 0.1 M 2-乙基己酸亚锡的甲苯溶液(化学计量比 200 ppm)。得到非晶态共聚物。通过 GPC 发现该共聚物的分子量为约 20,650 g/mol。

实施例 V(d): 用作包裹材料 r 以丙二醇起始的聚(1-丙交酯共 d, 1-乙交酯)共聚物(PLGPD), 80/20 P(1)L(d, 1)LPD

按实施例 V(a)所述的方法合成标题产品，但加入(化学计量比 200 ppm)的是：239.09 g 1-丙交酯、59.77 g d, 1-丙交酯(Purac 生化,



Arkelsedijk, 荷兰)、1.14 g丙二醇和3.96 ml的0.1 M 2-乙基己酸亚锡的甲苯溶液。得到非晶态共聚物。通过GPC发现该共聚物的分子量(Mw)为22,320 g/mol。通过DSC在48°C出现玻璃态转变。

5 纯化—在与循环浴器相连的6L套层反应器中,通过30% (W/W) 的乙腈 (Labscan, Dublin, 爱尔兰) 溶液以8ml/分钟的速度在冷却至约2°C的去离子水中雾化,来分别冲洗实施例V (a)、V (b) 和V (c) 的共聚物,并用Heidolph搅拌器 (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, 德国) 以约350 rpm的速度搅拌。用Masterflex泵 (Cole Parmer 仪器公司, Niles, Illinois, 美国) 将该溶液注入Vibra-Cell VC 50雾化喷嘴
10 (Bioblock, Illkirch, 法国) 中,并使用12 kHz的超声频率实现雾化。通过Whatman 1号 (直径24cm) 滤纸 (Whatman国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国) 过滤该分散体,再用去离子水冲洗滤饼,将其冻结并在Edwards SuperModulyo冻干器 (Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国) 中冻干。

15 用加热速度为10°C/分钟的TA DSC912s (TA仪器, New Castle, Delaware, 美国),通过DSC测定纯度,结果显示了实施例V(a)、V(b)、V(c) 和V (d) 分别在44°C、49°C、45°C和48°C的玻璃化转变(Tg)。

实施例VI

载肽阳离子交换剂的制备

20 实施例VI(a): 载有A肽 (p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, 一种LHRH类似物)-将实施例I(a)、I(b)、I(c) 和 II(a) 的每一种钠盐4g分别分散在含1.33 g溶解在70 ml去离子水中的无碱A肽 (Kinerton有限公司, Dublin, 爱尔兰) 的溶液中。在经直径9cm的Whatman 1号滤纸 (Whatman国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国) 过滤之前,
25 分散体在室温培养并同时搅拌约2小时。用去离子水进一步冲洗滤饼,将



其冻结，并在Edwards SuperModulyo冻干器(Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国)中冻干。然后通过元素分析来分析样本中的氮，从而测定被结合的A肽的数量。得到以下结果：

实施例e	CE 实施例号	CE 聚合物	结合的A肽的 重量百分数
VI(a) (i)	I(a)	7/1 PGCA	24.52%
VI(a) (ii)	I(b)	10/1 PGCA	12.60%
VI(a) (iii)	I(c)	15/1 PGCA	19.29%
VI(a) (iv)	III(a)	10/1 PGTA	17.60%

5 实施例VI(b)：载有B肽(H- β -D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH₂，两个Cys通过二硫键连接，一种抑生长素类似物)-按实施例VI(b)所述的方法，使用实施例I(a)、I(b)、I(c)和II(a)的每一种钠盐4g、以及1.33 g无碱B肽(Kinerton有限公司，Dublin，爱尔兰)。得到实施例I(a)、I(b)、I(c)和II(a)的固定有B肽的结合微颗粒。

10 通过元素分析来分析样本中的氮含量，从而测定被结合的B肽的数量。所得结果如下所示：

实施例e	CE 实施例号	CE 聚合物	结合的B肽的 重量百分数
VI(b) (i)	I(a)	7/1 PGCA	25.20%
VI(b) (ii)	I(b)	10/1 PGCA	13.10%
VI(b) (iii)	I(c)	15/1 PGCA	19.64%
VI(b) (iv)	III(a)	10/1 PGTA	14.23%



实施例VII

通过雾化作用制备载多肽的包裹阳离子交换剂

将载多肽阳离子交换剂分散于包裹共聚物的乙腈 (Labsan, Dublin, 爱尔兰) 溶液中, 如下所述。通过用Ultra-turrax T25均化器 (IKA, Staufen, 德国) 以约9,500 rpm的速度均化约5分钟来完成分散。包裹共聚物/乙腈溶液的浓度范围为12.5%-25% (W/W), 包裹共聚物与载多肽阳离子交换剂的重量比为1:1至1.3:1。

分散后, 用陶瓷活塞泵 (FMI, Oyster Bay, 纽约, 美国) 将该分散体注入超声频率为16 kHz、流速为2ml/分钟的Vibra-Cell VC50雾化喷嘴 (Bioblock, Illkirch, 法国) 中。当达到该喷嘴时, 通过加入干冰球 (A. I. G., Dublin, 爱尔兰) 使分散体在冷却至约-80°C的异丙醇 (IPA) (Labsan, Dublin, 爱尔兰) 中雾化。IPA用作收集非溶剂, 用Heidolph搅拌器 (Heidolph Elektro GmbH, Kelheim, 德国) 以约300 rpm的速度搅拌。一旦雾化结束, 将全部分散体熔化, 直至温度为约10°C至约室温。然后通过Whatman 1号滤纸 (Whatman国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国) 真空过滤来收集包裹的微颗粒。用去离子水冲洗滤饼, 将其冻结, 并在Edwards SuperModulyo冻干器 (Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国) 中冻干。用吐温20的1%水溶液作为分散剂、使用Malvern Mastersizer/E (Malvern, Worcs., 联合国) 分析所得到的包裹微颗粒的大小。通过元素分析法分析包裹微颗粒中的氮含量, 从而测定肽含量。

下表表示所进行的各种包裹实验:

实施号	载肽CE: 实施例号	包裹共 聚物 实 施例号	乙腈中的包 裹共聚物浓 度 (W/W)	包裹共 聚物: 载肽CE	平均颗粒直 径	载肽重量百 分数
-----	---------------	--------------------	---------------------------	--------------------	------------	-------------

VII(a)	VI(a) (ii)	V(a)	24.31%	1:1	122.14 μ m	5.38% A肽
VII(b)	VI(a) (ii)	V(b)	22.41%	1:1	120.15 μ m	6.38% A肽
VII(c)	VI(a) (iii)	V(b)	12.5%	1:1	79.30 μ m	7.76% A肽
VII(d)	VI(a) (iii)	V(c)	12.5%	1:1	77.85 μ m	8.93% A肽
VII(e)	VI(a) (iv)	V(c)	14.95%	1:1	136.74 μ m	8.75% A肽
VII(f)	VI(a) (i)	V(c)	14.92%	1.27:1	80.59 μ m	10.31% A肽
VII(g)	VI(b) (ii)	V(a)	25.37%	1:1	140.58 μ m	2.63% B肽
VII(h)	VI(b) (ii)	V(b)	20%	1.15:1	96.77 μ m	5.98% B肽
VII(i)	VI(b) (iii)	V(b)	12.5%	1:1	102.56 μ m	7.69% B肽
VII(j)	VI(b) (iii)	V(c)	12.5%	1:1	83.72 μ m	7.90% B肽
VII(k)	VI(b) (iv)	V(c)	14.95%	1:1	135.14 μ m	6.69% B肽
VII(l)	VI(b) (i)	V(c)	14.92%	1.26:1	123.18 μ m	10.11% B肽

在进行体内和/体外试验前将所有样品经180μm筛子 (Bioblock, Illkirch, 法国) 筛分。



可以通过下列方法在体外对结合微颗粒或包裹微颗粒进行试验，以评价结合肽或结合蛋白质的释放速率。将重约50 mg的等分结合微颗粒或包裹微颗粒置于连续的流动池系统中，于pH约7.2和约37℃下的缓冲磷酸盐溶液以约45ml/小时的速度流经整个结合微颗粒或包裹微颗粒。在约45℃收集含被释放药物的缓冲液样品，间隔一天或两天时分析肽或蛋白质的浓度。过两周后，测定每个微颗粒的释放分布图。

可以通过下列方法在体内系统对结合微颗粒或包裹微颗粒进行试验，以评价结合肽或结合蛋白质的释放速率。将样品通过肌内注射到Wistar雄性大鼠（Bioresources, Trinity大学, Dublin, 爱尔兰）的大腿，以对其给药。悬浮液介质含3%羧甲基纤维素和吐温20的1%盐水溶液。对于载A肽样品，有效的当量剂量为40 μg/kg/天。对于载B肽样品的该剂量为1mg/kg/天。通过心脏穿刺取出样品，并通过对A肽和B肽有特异性的放射免疫测定法（RIA）来监测血浆肽水平。在载A肽样品（A肽为一种LHRH类似物）中，睾酮RIA也可用于监测睾酮抑制。作为悬浮介质的替代，某些情况下可使用胶凝剂。结果如下表A和表B所示。

表A

A肽实施例	A肽 (>150 pg/ml) 天数	睾酮 (<1 ng/ml) 天数
VII(a)	20	21
VII(b)	10	10
VII(c)	2	11
VII(d)	2	11
VII(e)	2	13
VII(f)	2	16
胶凝剂中的VII(a)	25	44



表B

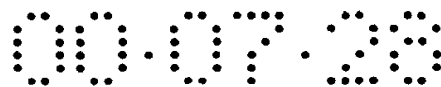
B肽实施例	B肽(>1000 pg/ml)天数
VII(g)	未测
VII(h)	未测
VII(i)	未测
VII(j)	15
VII(k)	10
VII(l)	10

实施例VIII

实施例VIII(a): 用乙腈作为溶剂和室温IPA作为非溶剂时的雾化作用

5 将约1.06 g实施例I(c)的阳离子交换剂(未与多肽结合)分散于实施例V(a)的包裹共聚物的25.24%(W/W)乙腈(Labscan, Dublin, 爱尔兰)溶液中, 以使阳离子交换剂与包裹共聚物的重量比为约1.03:1。通过用Ultra-turrax T25(IKA, Staufen, 德国)以约9,500 rpm的速度均化约5分钟而完成此分散。

10 分散后, 用陶瓷活塞泵(FMI, Oyster Bay, 纽约, 美国)将该分散体注入超声频率为16 kHz、流速为2ml/分钟的Vibra-Cell VC50雾化喷嘴(Bioblock, Illkirch, 法国)中。当达到该喷嘴时, 使分散体于室温(17-22°C)的异丙醇(IPA)(Labscan, Dublin, 爱尔兰)中雾化。该IPA用作收集非溶剂, 用Heidolph搅拌器(Heidolph Elektro GmbH, 15 kelheim, 德国)以约300 rpm的速度搅拌。一旦雾化结束, 将分散体于室温再搅拌约60分钟, 然后通过Whatman 1号滤纸(Whatman国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国)真空过滤来回收被包裹的颗粒。用去离子水冲洗滤饼, 将其冻结, 并在Edwards SuperModulyo冻干器(Edwards,



Crawley, West Sussex, 联合国)中冻干。用吐温20的1%水溶液作为分散剂、使用Malvern Mastersizer/E(Mavern, Worcs., 联合国)分析所得到的颗粒的大小。所得到的颗粒的平均颗粒大小($d(0.5)$)为 $84.75 \mu\text{m}$ 。

5 实施例VIII(b): 用乙酸乙酯作为溶剂和室温下的IPA作为非溶剂时的雾化作用

基本上根据实施例VIII(a)所述的方法进行雾化, 但用约0.99 g实施例I(c)的阳离子交换剂(未与多肽结合)分散于实施例V(a)的包裹共聚物的24.88% (W/W) 乙酸乙酯(Riedel-de Haen, Seelze, 德国)溶液中, 以使阳离子交换剂与包裹共聚物的重量比为约0.96:1。所得到的颗粒的
10 平均颗粒大小($d(0.5)$)为 $100.56 \mu\text{m}$ 。

实施例VIII(c): 使用乙酸乙酯作为溶剂和高频率探测剂的雾化作用
用约1.02 g实施例I(c)的阳离子交换剂(未与多肽结合)分散于实施例V(a)的包裹共聚物的15.14% (W/W) 乙酸乙酯(Riedel-de Haen)溶液中, 以使阳离子交换剂与包裹共聚物的重量比为约1.05:1。通过用
15 Ultra-turrax T25 (IKA, Staufen, 德国)以约9,500 rpm的速度均化约5分钟来完成此分散。

分散后, 用陶瓷活塞泵(FMI, Oyster Bay, 纽约, 美国)将该分散体注入超声频率为约34.6 kHz、流速为5ml/分钟的Martin Walter 400 GSIP 雾化器(Sodeva, Le Bouget du Lac, 法国)中。当达到喷嘴时,
20 通过加入干冰球(A. I. G., Dublin, 爱尔兰)使分散体在冷却至约 -77°C 的异丙醇(IPA) (Labscan, Dublin, 爱尔兰)中雾化。该IPA用作收集非溶剂, 用Heidolph搅拌器(Heidolph Elektro GmbH, kelheim, 德国)以300 rpm的速度搅拌。一旦雾化结束, 通过Whatman 1号滤纸(Whatman 国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国)真空过滤来回收被包裹的颗
25 粒。用去离子水冲洗该滤饼, 将其冻结, 并在Edwards SuperModulyo冻干



器(Edwards, Crawley, West Sussex, 联合国)中冻干。用吐温20的1%水溶液作为分散剂,通过Malvern Mastersizer/E(Mavern, Worcs., 联合国)分析所得到的颗粒的大小。所得到的颗粒的平均颗粒大小(d(0.5))为95.69 μ m。

5

实施例IX

与阳离子交换剂的结合和抑生长素类似物C肽和D肽的随后的包裹

实施例IX(a): 载有C肽

将约1.01 g分散于含0.25 g无碱C肽的溶液中的实施例I(c)的钠盐溶解在40ml去离子水中,上述C肽的结构为N-羟乙基哌嗪基-乙酰基-D-
10 Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂,其中两个Cys残余物通过二硫键连接(Kinerton有限公司, Dublin, 爱尔兰)。将该分散体温育,再搅拌约2小时,然后通过直径为9cm的Whatman 1号滤纸(Whatman 国际有限公司, Maidstone, Kent, 联合国)过滤。用去离子水进一步冲洗该滤饼,将其冻结,并在Edwards SuperModulyo冻干器(Edwards, Crawley,
15 West Sussex, 联合国)中冻干。然后对样品进行氮的分析以,测定肽的结合量,其为20.21%。

实施例IX(b): 载有D肽

采用实施例IX(a)的方法,但将分散于含0.51 g无碱D肽的溶液中的实施例I(c)的约2.04 g钠盐溶解在80ml去离子水中,上述D肽的结构为N-
20 羟乙基哌嗪基-乙磺酰基-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH₂,其中两个Cys残余物通过二硫键连接(Kinerton有限公司, Dublin, 爱尔兰)。然后对样品进行氮的分析以测定肽的结合量,其为19.53%。

实施例X

按实施例VII所述的方法包裹实施例IX(a)和IX(b)的结合微颗粒,
25 得到下列结果:



Ex. 号	载肽CE	包裹共聚物	乙腈中的包裹共聚物浓度 (W/W)	包裹共聚物: 载肽CE	平均颗粒大小 (μm)	载肽重量百分比
X(a)	IX(a)	V(c)	12.51%	1:1	83.33	9.48%
X(b)	IX(b)	V(c)	12.48%	0.98:1	72.15	8.87%
X(c)	IX(b)	V(d)	12.35%	0.98:1	86.03	6.47%

实施例XI

胶凝剂制剂的制备

使用微型机械混合器, 将实施例VII(a) 的被包裹微颗粒(0.3 g)与液体胶凝剂(2.0 mL实施例I的成分“A”和实施例III的成分C的50/50混合物, 这两种成分在美国专利号5,612,052中公开)在5 mL 注射器筒内, 以约20rpm的速度混合约10分钟。通过干燥加热将胶凝剂预消毒, 并用已消毒的搅拌器在层流通风橱中进行混合。制剂从5 mL注射器(插入柱塞后)流入较小的注射器中, 这就是用于给药的制剂。用光学显微镜检测制剂的均匀度。将小注射器收集储存在干的口袋中、并保持4°C, 直至使用。