



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 93121466.1

[51]Int.Cl⁵

A61K 37/36

[43]公开日 1994年10月19日

[22]申请日 93.12.28

[30]优先权

[32]92.12.28[33]KR[31]25904/92

[71]申请人 株式会社乐喜

地址 韩国汉城

[72]发明人 金南中 赵兴洙 宋孟锡

崔允贞 李炳建

[74]专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 刘国平

A61K 9/22

说明书页数:

附图页数:

[54]发明名称 控制释放的可移植的生长激素组合物

[57]摘要

本发明涉及控制释放的可植入的组合物,它包括一种生长激素,一种生物相容性蜡和水溶性聚合物。本发明的组合物有优越的持续的效果,并几乎没有副作用,适合于长期给药。

权 利 要 求 书

1、一种控制释放的可植入的组合物，它包含一种水溶性的聚合物，一种生物相容性蜡以及有效量的生长激素。

2、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的水溶性聚合物的量是在占该组合物总量的30%至50%（重量）范围内。

3、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的生物相容性蜡的量是在占该组合物总量的30%至50%（重量）范围内。

4、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的体生长素是动物生长激素。

5、根据权利要求4所述的组合物，其中所述的生长激素是牛或猪生长激素。

6、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的生长激素是采用重组DNA技术制备的。

7、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的生长激素是冻干的或脂质体生长激素。

8、根据权利要求7所述的组合物，其中所述的脂质体生长激素包括生长激素和 α -磷脂酰胆碱。

9、根据权利要求1所述的组合物，其中所述的水溶性聚合物是聚乙二醇。

10、根据权利要求9所述的组合物，其中所述的聚乙二醇分子量为1,000至40,000道尔顿范

围。

1 1、根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述的生物相容性蜡为石蜡。

1 2、根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述的可植入的组合物是药片或药丸的形式。

1 3、根据权利要求 1 2 所述的组合物，其中所述的药片或药丸的直径大小为 **3 至 1 5mm** 并且其厚度为 **1 至 1 0mm**。

说 明 书

控制释放的可移植的生长激素组合物

本发明涉及一种控制释放的可植入的生长激素 (**somatotropin**) 组合物; 并且尤其是涉及当以非肠道途径给动物和人类给药时能提供持续释放的生物学活性的生长激素的一种控制释放的可植入的生长激素组合物。

大多数生物学活性生长激素具有比较短的体内半衰期。为了提供足够高的生物学效应并保持生长激素的延长了的生物学活性, 由此, 必须连续地和/或频繁地施用该药剂, 从而可能使给药的受治疗者产生严重的副作用。因此, 如果将生长激素体内供药时, 需要一种延长其效果的无害的方案。因此, 已进行了各种尝试以便找到一种具有延长释放特性的生长激素组合物, 从而可以降低给药的频率及剂量。

到目前为止, 大多数已有的控制释放的生长激素组合物是可注射的制剂。例如, 韩国专利公告**No. 89-2631**和韩国专利公开**No. 87-1825**公开了一种含有在油悬浮的赋形剂中的过渡金属元素/生长激素的复合物, 其中的油悬浮的赋形剂由植物油或矿物油与赋形剂和佐剂混合而成。

欧洲专利公告号**1986/193, 917**和**1989/314, 421**描述一种包括分散于水中或分散

于含有碳水化合物聚合物如葡聚糖的油中的生长激素生物学活性大分子的组合物。

欧洲专利公告号**1987/211, 691**还提供了一种包括分散于含有几种蜡的植物油中的生长激素的组合物。韩国专利公告号**92-5688**和韩国专利公开号**92-11513**提供了一种包括分散于醋酸生育酚中的生长激素的组合物。

但是，上面描述的组合物具有如突发效应的缺陷，并且，结果是已经找到了通过使用例如一种可植入的制剂而在体内供给生物学活性生长激素的另一种方法。

例如，韩国专利公告号**90-6886**告诉我们一种制造可植入药丸的方法，该药丸包括用如紫胶，蜂蜡和纤维素的部分阻挡的聚合物覆盖层包裹一种生长激素晶粒，从而控制生长激素的释放。同样，韩国专利公告号**93-8952**阐述了一种制造药丸形式的可植入制剂的方法，包括将生长激素，蔗糖和乙基纤维素混合，将该混合物配制成药丸以及用微多孔的或非多孔的聚乙烯包裹该药丸的步骤。

欧洲专利公告号**1991/462, 959**还公开了一种制造可植入制剂的方法，包括用具有各种分子量和浓度的聚醋酸乙烯包裹金属/生长激素复合物药丸。同样，美国专利号**4,765,980**告诉我们一种包含在硅酮管中的离子/生长激素复合物的可植入制剂。韩国专利公开号**93-12035**还显示了一种制备可植入药片的方法，包括使生长激素和水溶性聚合物的混

合物成粒并用羟甲基纤维素包裹该颗粒的步骤。

PCT国际公告号**WO90/11070**提供一种通过使用一种溶剂和水不溶性聚合物而制备的可植入的生长激素药丸。**PCT**国际公开号**WO91/05548**公开了一种包括分散于蜡和表面活性剂混合物中的生长激素的可植入组合物。

但是，上述的可植入的组合物常不能保持生长激素在所需的时期内持续释放，和/或需要复杂的制造过程如掺入金属离子复合物，包裹制剂等。而且，由于其与机体组织的不相容性，在施用到机体内后不久，该药剂立即被纤维状组织包成胶囊，从而导致严重后果。

另一方面，欧洲专利公告号**1987/246, 540**公开了一种制备可植入制剂的方法，包括将生长激素与脂肪酸均匀混合，并将其配成所需形式。尽管，所说方法很容易应用到有效低浓度要求的药剂，如，胰岛素，但将该技术应用到要求较高的有效浓度的药剂（例如，生长激素）相当困难，因为该制剂的释放速率非常低。

因此，本发明的主要目的是提供一种可植入的生长激素组合物，当体内给药时该组合物能以时间控制的方式控制生物学活性生长激素的释放，并且借助简单方法可制备该组合物。

根据本发明，提供了一种新的可植入的生长激素组合物，包含有生长激素，水溶性聚合物和生物相容性蜡的均匀混合物。

根据下面描述的优选实施例结合附图可以清楚上面所述及其他的本发明目的和特征，其中：

图 1 显示将含有根据本发明制备的猪生长激素的典型组合物施用到大鼠时对重量增加的影响；以及

图 2 和 3 显示将含有猪生长激素的典型组合物施用到切除垂体的大鼠时对重量增加的影响。

图 4 显示了将含有牛生长激素的典型组合物施用到切除垂体的大鼠时对重量增加的影响。

根据本发明，将一种水溶性的聚合物，一种生物相容性蜡和生长激素的冻干粉均匀混合以获得本发明的组合物，按照需要，可以将得到的组合物配制成各种基质类型。

可用于本发明的水溶性聚合物是具有分子量为 1,000 至 40,000 道尔顿范围，优选的是 1,540 到 35,000 道尔顿的聚乙二醇。各种聚乙二醇分子可单独使用或将在上面所述范围内的不同分子量的各个分子相互结合使用。在该组合物中使用的水溶性聚合物的量为占该组合物总重量的 30% - 50% (重量) 范围。

可用于本发明组合物中的生物相容性蜡包括石蜡和白蜂蜡等；并且可使用的蜡的量为占组合物总重量的 30% - 50% (重量) 范围。

用于本发明的组合物中的生物学活性生长激素是其任何一种冻干形式，它可以单独使用或与卵磷脂，如，L- α -磷脂酰胆碱混合（“脂质体生长激素”）使用，

并且可以是动物生长激素，优选的是牛生长激素或猪生长激素。可以从动物中提取或利用重组DNA技术从微生物培养物中生产上面所述生长激素。

可将本发明的组合物配制成适于给药的各种基质类型，例如，片剂或丸剂。

该制剂中活性成分的大小和含量随着所需的生物学活性生长激素的量而变化但在不使接受者机体产生排斥或毒副作用的范围内。对于片剂，其直径大小为3至15mm并且厚度为1至10mm。

下列提供的实施例仅是为了阐述本发明的目的并不是为了限制本发明范围。

实施例 1

将5克猪生长激素冻干粉与10克具有分子量为35,000的聚乙二醇和10克石蜡混合，然后用一个球状研磨机将该混合物均匀混合。

利用一个压片机 (KORSCH, MACHINE NFABRIK, Germany) 将上述得到的均匀混合的组合物250毫克制成直径大小为7mm，厚度为6.2mm的片剂。

实施例 2

使用分子量为20,000的聚乙二醇代替分子量为35,000的聚乙二醇重复实施例1中描述的相同步骤。

实施例 3

使用分子量为12,000的聚乙二醇代替分子量

为 35,000 的聚乙二醇重复实施例 1 中描述的相同步骤。

实施例 4

用分子量为 8,000 的聚乙二醇代替分子量为 35,000 的聚乙二醇重复实施例 1 中描述的相同步骤。

实施例 5

利用分子量为 1,540 的聚乙二醇代替分子量为 35,000 的聚乙二醇重复实施例 1 中描述的相同步骤。

实施例 6

重复实施例 1 中描述的相同步骤，所不同的是用冻干的脂质体生长激素（猪生长激素与 L- α -磷脂酰胆碱混合而得，是按照韩国专利申请 No. 90-23104 公开的方法制备的）代替冻干的猪生长激素，并且制备的是 266.5 毫克的片剂。

比较例 1

在没有猪生长激素时重复实施例中描述的相同步骤。

测定药片的物理特性如硬度和湿度含量。使用一个硬度测试仪 (ERWEKA TBH-28) 检测片剂的硬度，使用湿度分析仪 (Sartorius Moisture Analyser) 分析该片剂的湿度含量（参见表 1）。

表 1 显示了实施例 1 至 6 以及比较例 1 中制备的片剂的物理特性。

表1. 片剂的物理特性

	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 6	实施例 6	比较例 1
硬 度 (N)	88.0±4.30	83.8±2.80	83.2±2.62	91.5±1.59	76.5±2.43	74.7±3.10	46.4±1.15
湿度特性 (%)	1.06	0.87	1.39	1.42	1.13	1.12	0.49

按下文中描述的方法测试实施例中制备的片剂的释放率。

体外溶解检测

向溶解分析仪 (CALEVA Model 7S T) 的溶液杯中加入 400 毫升的 10mM 磷酸缓冲盐水, pH7.3 以及在实施例 1 至 5 的各个实施例中制备的一个药片; 并且在 37°C 及 100rpm 的条件下, 利用一个分光光度计在 24 小时内以每隔 2 小时检测 280nm 处溶液的吸收率。

生长激素的酪氨酸, 苯丙氨酸和色氨酸残基吸收波长为 275nm 和 280nm 的紫外光。上述氨基酸在生长激素中的结合含量几乎是不变的, 因此, 生长激素的浓度与 280nm 处吸收值成比例。对于纯的生长激素, 当生长激素的浓度为 1mg/ml 并且紫外光通道长度为 1cm 时测得 280nm 处的吸收值作为 1.0。

因此, 根据下面的等式很容易计算释放出的生长激素的量。

生长激素的释放量 (mg)

$$= 280\text{nm 处的吸收值 (O.D.)} \times \text{在溶解检测中使用的溶液的体积 (ml)}$$

用表 2 中显示的系数可得到从各种组合物 (在实施例 1 至 5 中制备) 释放的生长激素的量相对于消逝时间的线性等式, 即, $y = ax + b$ (其中 y 是释放的生长激素的量, x 是消逝的时间, 系数 a 和 b 分别代表斜率和截距)。利用最小二乘法可获得相关系数 r 并且相关

系数 r 代表线性的测试结果。

表2. 线性等式的系数代表释放量和消逝时间的关系

$$(y=ax + b)$$

系 数	实施例1	实施例2	实施例3	实施例4	实施例5
斜 率(a)	0.0380	0.0089	0.0084	0.0051	0.0087
截 矩(b)	0.0042	0.0181	0.0131	0.0025	0.0063
相关系数(r)	0.9905	0.9922	0.9920	0.9817	0.9912

体内效果检测

(1) 对正常大鼠体重增加的影响

利用实施例 1 至 5 和比较例 1 制备的药片通过体内检测测定本发明的生长激素组合物对体重的影响。将重为 200-250 克的三十头雌 SD 大鼠 (**Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea**) 切开其左背的皮下组织, 然后以 5 头大鼠为一组进行分组并分别在各组植入实施例 1 至 5 获得的药片, 并缝上切开的皮肤。在第六组的 5 个鼠中植入比较例 1 中获得的药片, 以该组作为对照组。在植入后 10 天时间内每天在相同时间将大鼠称重, 将重量与植入前短时间内称重的重量进行比较以测定其重量的增加, 结果显示于表 3。

表3. 大鼠重量的增加(克)

天数	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	比较例 1
1	15.20±1.77	8.32±2.90	13.68±0.98	15.16±1.59	10.30±1.60	4.63±0.94
2	22.68±2.08	20.72±2.70	20.40±1.66	20.10±1.32	18.00±1.46	6.38±1.45
3	24.54±2.60	24.20±1.56	24.78±2.19	25.26±1.24	22.06±1.84	7.65±1.83
4	27.14±3.36	28.48±2.11	27.60±3.12	29.20±1.21	25.06±2.06	8.05±1.07
5	34.70±3.28	33.66±1.64	33.34±2.92	34.92±1.62	32.00±1.50	11.55±1.40
6	38.74±4.24	38.98±2.21	44.24±3.55	39.02±0.46	36.46±1.56	10.23±1.38
7	43.08±4.36	42.20±1.59	47.72±4.29	40.68±2.26	40.26±2.55	13.20±1.76
8	45.86±4.74	43.72±2.76	47.38±6.17	41.20±1.90	41.52±2.34	14.98±2.20
9	50.56±4.17	49.64±1.48	50.20±5.24	42.20±2.23	44.14±2.58	15.05±1.48
10	54.26±4.51	52.68±0.87	52.10±4.37	42.00±1.25	43.36±4.35	19.04±2.05

(2) 对切除垂体的大鼠的体重的影响

根据实施例 1 中描述的步骤将实施例 1, 2 和 6 的组合物各 50mg 制成直径大小为 7mm 以及厚度为 1.4mm 的片剂。利用上述片剂通过体内检测本发明的组合物对切除垂体的大鼠的体重增加的影响。利用旁咽 (parapharyngeal) 方法 (H. B. Waynforth, *Experimental and Surgical Technique in the Rat*, pp. 143-150, Academic Press (1980)) 切去重为 80-120 克的雌性 SD 大鼠的垂体。从手术后两个星期开始, 1 周后每天在相同时间将大鼠称重, 以选择其重量维持最小变化的十六头大鼠。将上面制备的药片分别植入每组为四头的三个组的大鼠的切开的左背皮下组织中, 并缝上切开的皮肤。将比较例的 50 毫克组合物制成与前面所述相同大小的药片; 每头都植入该药片的四个大鼠作为对照组。在 10 天时间内每天在同一时刻将 16 头大鼠称重, 并将称得的重量与植入前三天称得的重量进行比较以决定其重量的增加。结果显示于表 4 中。其重量的增加表示为平均值 ± 标准偏差。

表4. 切除垂体的大鼠重量的增加(克)

天数	实施例1的 组合物	实施例2的 组合物	实施例6的 组合物	比较例 1
1	4.68±0.43	5.73±0.88	5.83±0.65	0.60±1.08
2	11.60±0.78	13.58±1.24	14.88±0.45	1.25±0.76
3	16.23±0.62	19.33±1.70	19.00±1.66	1.70±0.56
4	20.23±1.53	21.23±2.29	20.08±2.25	0.77±0.82
5	22.68±1.63	24.10±2.13	21.68±2.24	0.95±0.88
6	25.38±2.23	24.53±3.02	22.15±2.72	1.47±1.50
7	27.88±2.02	24.95±2.59	22.85±2.48	1.95±1.02
8	28.68±2.98	24.20±2.83	24.47±3.10	4.33±1.39
9	28.45±3.32	25.93±2.57	24.87±2.82	3.13±1.70
10	29.15±2.66	26.63±3.13	25.90±3.84	3.93±1.73

实施例 7

根据实施例 1 描述的步骤将实施例 1 的组合物 50 毫克 (含 10 毫克猪生长激素) 制成直径大小为 4 mm 以及厚度为 3.6 mm 的药片。

实施例 8

利用实施例 7 中描述的操作法将 40 mg (含 10 mg 猪生长激素) 的组合物制成药片, 该组合物是按照实施例 1 描述的步骤制备的, 与实施例 1 不同的是使用了 7.5 克聚乙二醇 (MW = 35,000) 以及 7.5 克石蜡。

实施例 9

利用实施例 7 中描述的步骤将 30 mg (含 10 mg 猪生长激素) 组合物制成药片, 其中的组合物是按照实施例 1 中描述的方法制备的, 与实施例 1 不同的是, 使用了 5 克聚乙二醇 (MW = 35,000) 以及 5 克石蜡。

比较例 2

根据欧洲专利公告 No. 1987/246, 540 中实施例 3 的描述, 使用一个球状研磨机, 将 32.5 mg 软脂酸, 7.5 mg 的胆固醇以及 10 mg 猪生长激素均匀混合, 然后将该组合物 50 mg 制成直径大小为 4 mm 以及厚度为 3.6 mm 的药片。

根据前面描述的方法, 使用实施例 7 至 9 以及比较例 2 中制备的药片, 在切除垂体的大鼠中完成体内检测。

结果显示于下面表 5 中。在表 5 中, 给出的重量增

加值为平均值±标准偏差，并以未处理的切除垂体的大鼠作为对照组。

表5. 切除垂体的大鼠重量的增加(克)

人数	实施例 7	实施例 8	实施例 9	比较例 2	对照
1	2.7±1.22	4.6±1.37	4.2±1.10	1.3±0.56	-0.1±0.43
2	9.4±1.99	10.1±1.33	8.9±1.36	5.9±0.58	0.6±0.60
3	12.9±1.56	12.8±0.86	15.2±0.89	8.9±0.31	1.3±0.87
4	17.6±2.20	16.7±1.14	18.4±1.25	8.6±0.46	1.1±0.85
5	22.8±2.64	20.7±1.73	23.8±1.33	9.9±0.32	1.6±0.97
6	27.4±2.51	23.9±1.44	26.9±2.19	11.2±0.36	1.9±1.49
7	31.2±2.49	27.9±2.48	30.8±2.68	11.8±0.83	2.3±1.67
8	33.0±1.84	33.3±2.85	34.9±2.62	11.5±0.26	3.1±1.44
9	37.7±2.28	35.9±2.79	37.5±2.45	13.7±0.58	2.5±1.44
10	42.4±3.60	38.9±3.16	41.3±2.62	14.8±1.45	2.8±1.55
11	44.3±3.91	43.1±3.43	44.0±2.71	15.3±0.92	3.6±1.47
12	46.6±4.49	46.5±3.86	47.2±2.85	18.2±0.12	5.2±1.00
13	44.2±3.72	42.6±3.47	45.1±3.22	15.4±0.61	1.6±0.70
14	45.8±3.89	44.6±3.43	46.0±2.93	18.1±0.12	4.3±0.92

实施例 10

按照相同于实施例 7 描述的方法，使用 10mg 牛生长激素代替 10mg 猪生长激素，制备每个药片。按照前面描述的方法，使用上面制备的药片，在切除垂体的大鼠中进行体内试验，以未处理的切除垂体的大鼠作为对照组。结果显示于下面表 6 中。在表 6 中，给出的重量增加值为平均值 ± 标准偏差。

表6. 切除垂体的大鼠重量的增加(克)

天数	实施例 10	对照
1	-0.2±1.06	-1.8±1.07
2	4.9±1.56	1.3±1.28
3	5.7±1.25	-0.6±0.92
4	11.7±0.66	0.3±0.76
5	14.5±0.80	0.2±0.77
6	17.1±1.00	0.5±1.23
7	20.1±1.22	0.4±0.71
8	21.7±1.01	0.9±1.60
9	23.5±1.34	1.3±1.80
10	24.8±1.60	0.3±1.89
11	31.2±1.30	1.5±1.25
12	32.6±1.24	1.5±2.21
13	34.4±1.68	-0.7±2.33
14	35.8±1.49	0.7±2.34

实施例 1 1

将本发明的猪生长激素组合物植入猪中，并且在植入后 4 周内检测猪增加的重量以及喂养效率。用重量约为 75 kg 的 12 只雄猪完成检测。

每 2 周将实施例 1 中制备的重为 500mg（含 100mg 的猪生长激素）的各个药片植入到 6 只猪的每一只的皮下组织中。另外 6 只猪未进行处理用作为对照组。在植入前，植入后 2 周和 4 周测猪的重量。计算平均日增重（ADG），饲料摄取量以及喂养效率（饲料摄取量/体重增加的量），结果与增加的重量值一并列于表 7 中。

表7. 本发明组合物对猪重量增加以及饲料效率的影响

	重 量 (kg)			摄入的饲料 (kg)	喂养效率 (提高%)
	起 始	2周后 (ADG)	4周后 (ADG)		
对 照	68.82	80.10 (0.81)	92.05 (0.83)	85.93	3.70
检测组	68.62	82.06 (0.96)	93.30 (0.88)	79.56	3.22 (13.0%)

从上述结果可看出，以体内供药时本发明制备的组合物显示出持续的效果，并且这些组合物是用简单方法制备的。另外，这些组合物的副作用是微不足道的，从而，适用于长期给药。

对于由上述特定实施例描述本发明时，应认识到可对其涉及的发明进行本领域内技术人员显而易见的各种修改和变化，并且这种变化都是在下面的权利要求定义的发明范围内。

说明书附图

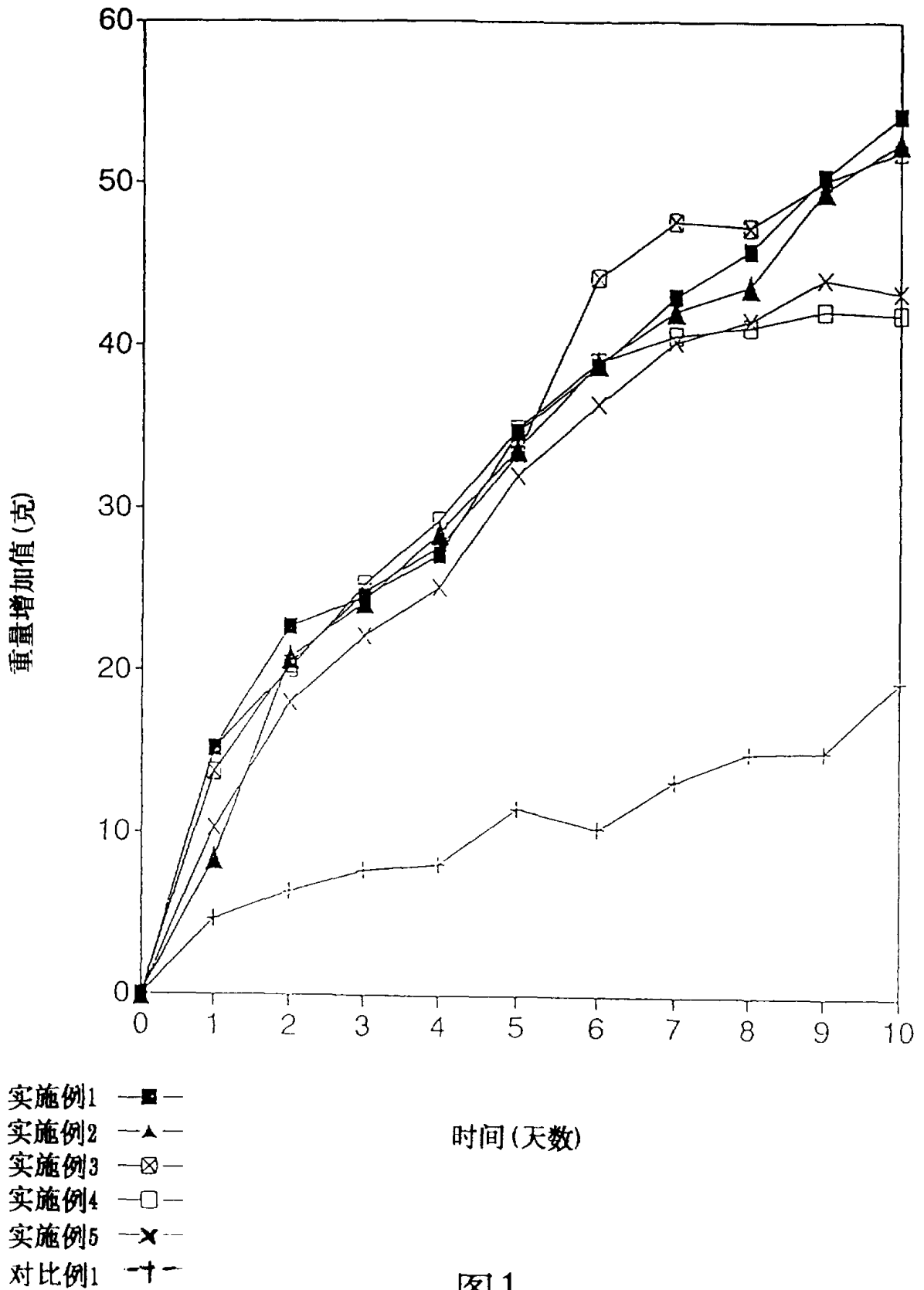


图1

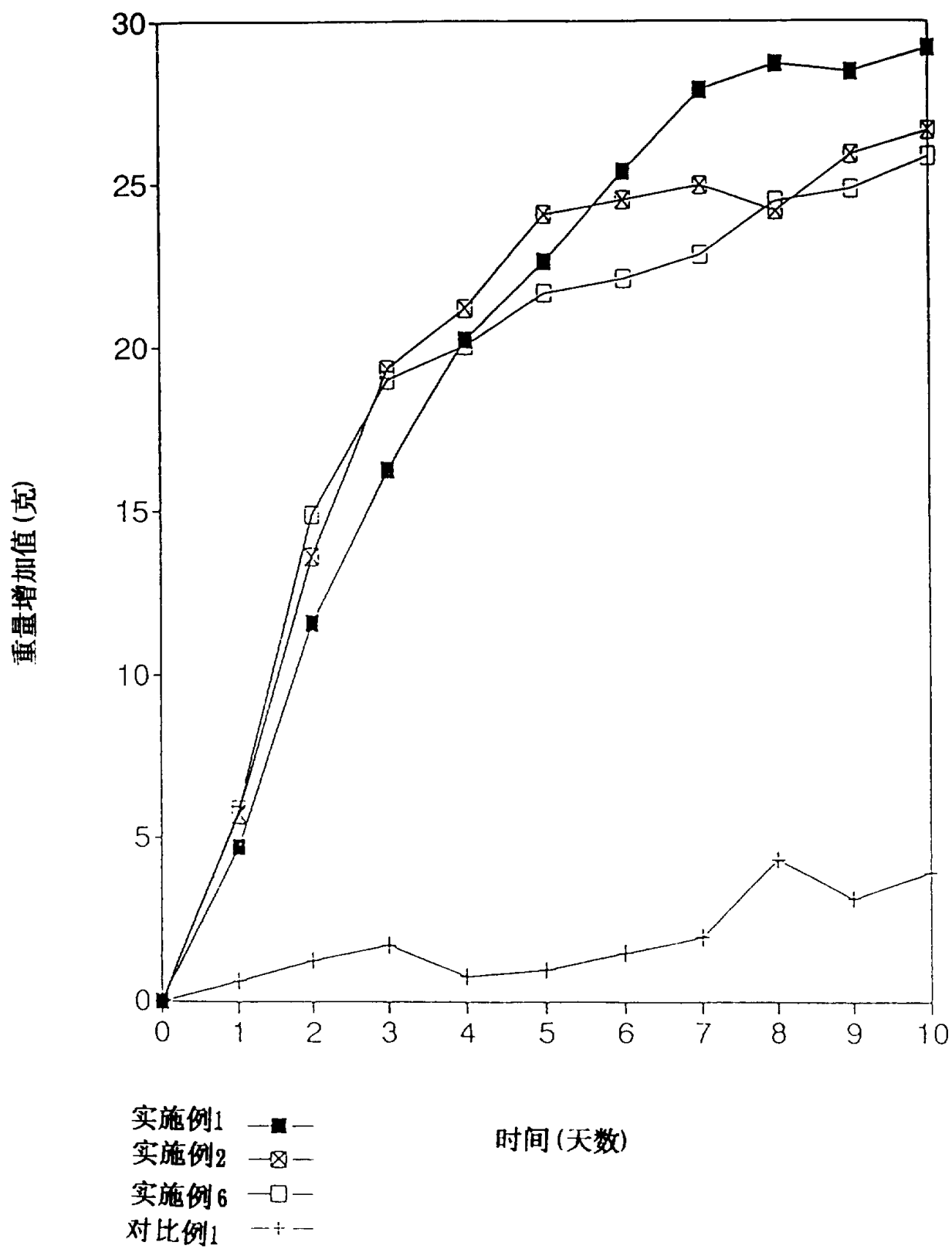
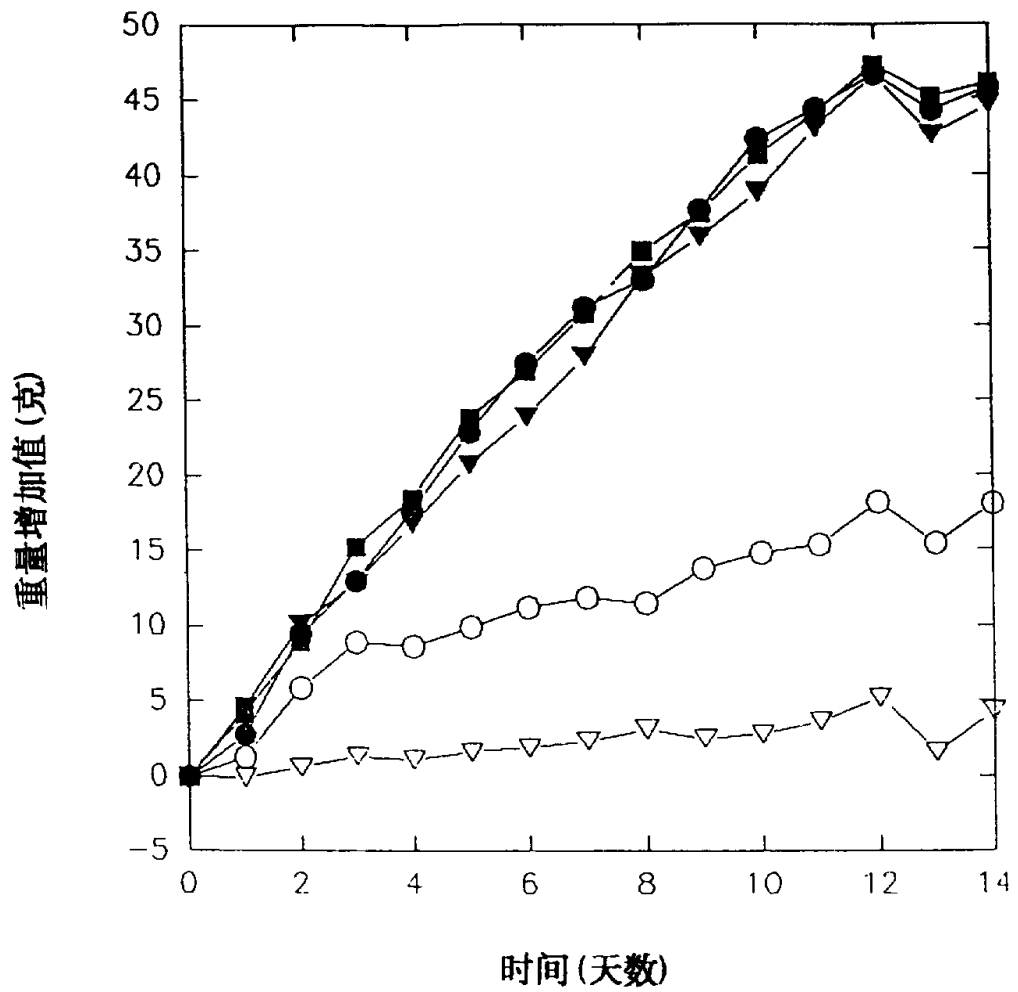


图2



- : 实施例 7
- ▼ : 实施例 8
- : 实施例 9
- : 对比例 2
- ▽ : 对照

图3

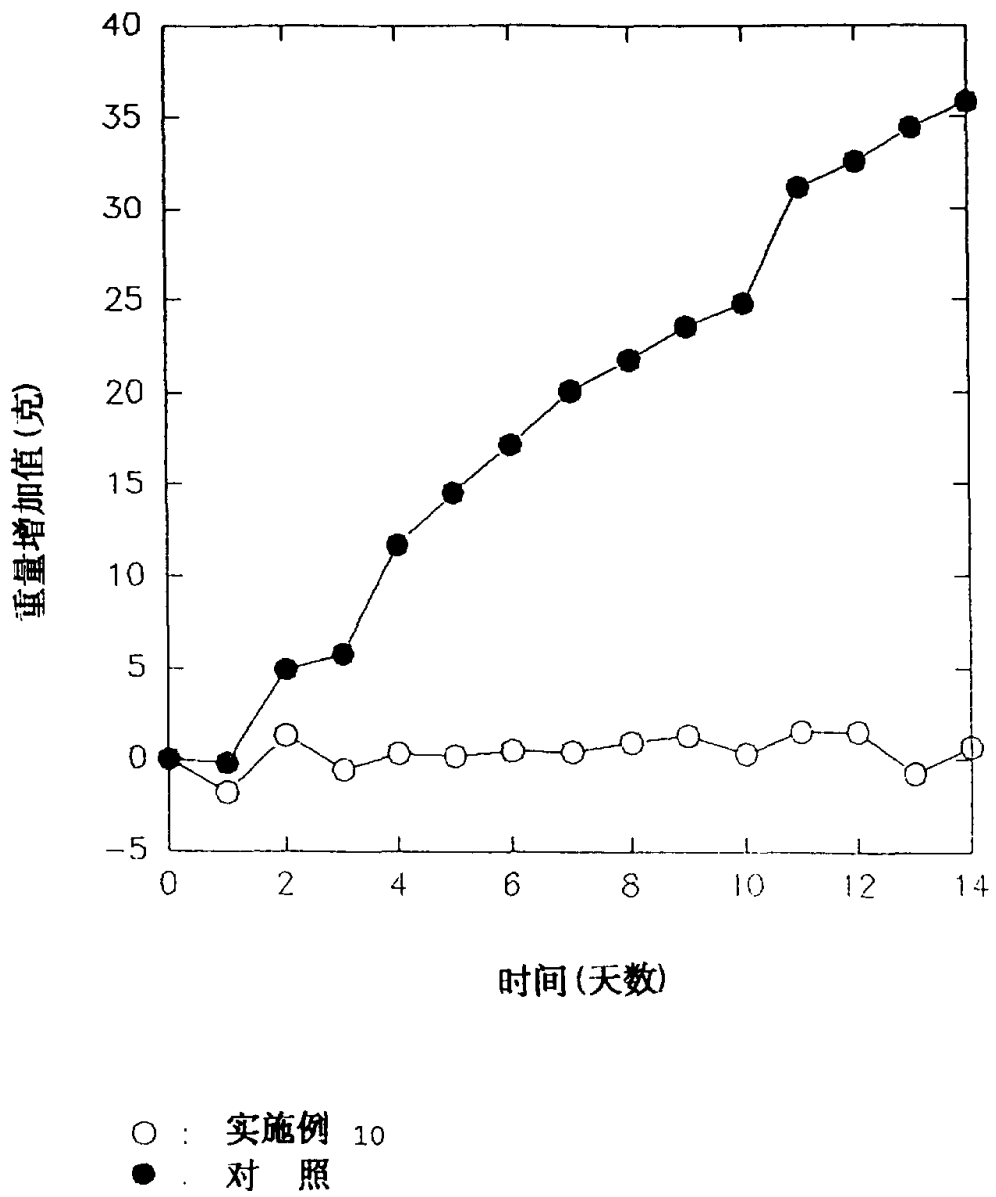


图4