



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01807605.X

[43] 公开日 2003年6月4日

[11] 公开号 CN 1422160A

[22] 申请日 2001.1.31 [21] 申请号 01807605.X

[30] 优先权

[32] 2000. 2. 4 [33] US [31] 60/180,241

[86] 国际申请 PCT/US01/03212 2001. 1. 31

[87] 国际公布 WO01/56594 英 2001. 8. 9

[85] 进入国家阶段日期 2002. 9. 29

[71] 申请人 尤尼金实验室公司

地址 美国新泽西

[72] 发明人 威廉·斯特恩

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 3 页 说明书 8 页

[54] 发明名称 鼻内降钙素制剂

[57] 摘要

本发明公开了一种包含降钙素或其酸加成盐以及浓度为约 10—50mM 的柠檬酸和/或其盐的液体药物组合物，所述组合物的剂型适合于鼻内给药。

1、一种包含降钙素或其酸加成盐以及浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸和/或其盐的液体药物组合物，所述组合物的剂型适合于鼻内给药。

2、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其进一步包含药物学上可接受的水性液体鼻内载体。

3、如权利要求 2 所述的液体药物组合物，其中所述载体包括盐水。

4、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述组合物为鼻内喷雾剂的形式。

5、如权利要求 4 所述的液体药物组合物，其具有低于 0.98 cP 的粘度。

6、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素选自于以下组中：鲑降钙素、人降钙素、猪降钙素和 1,7-Asu-鳗降钙素。

7、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素是鲑降钙素。

8、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素或盐的含量为约 100—8000 MRC 单位/ml。

9、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素或盐的

含量为约 500—4000 MRC 单位/ml。

10、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素或盐的含量为约 500—3000 MRC 单位/ml。

11、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其中所述降钙素或盐的含量为约 1000—2500 MRC 单位/ml。

12、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其 pH 为约 3—5。

13、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其 pH 为约 3.5—3.9。

14、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其 pH 为约 3.7。

15、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其渗透压为约 250—350 mOsm/L。

16、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其还包含至少 0.1 重量 % 的 Tween 80。

17、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其还包含至少一种选自以下组中的防腐剂：苄醇、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯。

18、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其包含约 2,200 MRC 单位的鲑降钙素、约 10 mM 的柠檬酸、约 0.2% 的苯乙醇、约 0.5% 的

苯醇、以及约 0.1% 的 Tween 80。

19、如权利要求 1 所述的液体药物组合物，其包含约 2,200 MRC 单位的鲑降钙素、约 20 mM 的柠檬酸、约 0.2% 的苯乙醇、约 0.5% 的苯醇、以及约 0.1% 的 Tween 80。

20、一种向需要降钙素治疗的患者给药降钙素的方法，该方法包括通过鼻腔途径向所述患者给药如权利要求 1 所述的组合物。

21、如权利要求 20 所述的方法，其中降钙素的给药量为约 200—600 MRC 单位。

22、一种提高降钙素液体药物组合物之稳定性的方法，其包括在所述组合物中添加浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐。

23、一种在鼻内给药降钙素液体药物组合物后提高患者中血浆降钙素的生物利用度或浓度的方法，其包括在所述给药前向所述组合物中添加浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐。

## 鼻内降钙素制剂

### 技术领域

本发明涉及包含降钙素作为活性成分以及特定浓度的柠檬酸或其盐作为稳定剂和吸收促进剂的鼻内药物组合物。

### 背景技术

降钙素属于多肽激素类，可用于治疗各种病症，包括骨质疏松、Paget病和恶性高钙血症。降钙素是由氨基酸构成的，而且可从多种来源提取，包括蛙、猪、鳗和人。其中氨基酸序列与天然形式相同的降钙素已通过化学合成和重组技术制得。

由于它们的尺寸以及化学组成，降钙素原先是通过皮下或者肌肉注射给药的。其他的给药途径在技术上有困难，这是因为降钙素的组织吸收性较差，而且易于被体液分解。尽管有这些障碍，已有人研制出可通过鼻腔途径给药的制剂（第 5,759,565 号美国专利）。鼻内制剂被设计成储存在多剂量容器中，在长时间内是稳定的，而且可对抗细菌污染。发现该制剂中的防腐剂——洁尔灭可促进蛙降钙素的吸收。然而，有报道称洁尔灭会使给药包含防腐剂的减充血剂鼻内喷雾剂的健康自愿者中的药物性鼻炎（rhinitis medicamentosa）恶化（P. Graf 等人, Clin. Exp. Allergy 25: 395-400; 1995）。其对于鼻粘膜也有副作用（H. Hallen 等人, Clin. Exp. Allergy 25: 401-405; 1995）。Berg 等人（Laryngoscope 104: 1153-1158; 1994）公开了暴露于体外的呼吸粘膜组织会发生严重的形态改变。在活体外的青蛙腭测试中还表明，洁尔灭还可导致粘液纤毛转运速度显著减慢（P. C. Braga 等人, J. Pharm. Pharmacol. 44: 938-940; 1992）。

## 发明内容

因此，本发明提供一种包含降钙素或其酸加成盐以及浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸和/或其盐的液体药物组合物，所述组合物的剂型适合于鼻内给药。

本发明还提供一种包含约 2,200 MRC 单位的鲑降钙素、约 10 mM 的柠檬酸、约 0.2% 的苯乙醇、约 0.5% 的苜醇、以及约 0.1% 的 Tween 80 的液体药物组合物。

本发明还提供一种包含约 2,200 MRC 单位的鲑降钙素、约 20 mM 的柠檬酸、约 0.2% 的苯乙醇、约 0.5% 的苜醇、以及约 0.1% 的 Tween 80 的液体药物组合物。

本发明还提供一种向需要降钙素治疗的患者给药降钙素的方法，该方法包括通过鼻腔途径向所述患者给药包含降钙素或其酸加成盐以及浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸和/或其盐的液体药物组合物。

本发明还提供一种提高降钙素液体药物组合物之稳定性的方法，其包括在所述组合物中添加浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐。

本发明还提供一种在鼻内给药降钙素液体药物组合物后提高患者中血浆降钙素的生物利用度或浓度的方法，该方法包括在所述给药前向所述组合物中添加浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐。

## 具体实施方式

根据本发明令人惊奇地发现，通过使用浓度范围在约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐作为缓冲剂，所得的包含降钙素作为活性成分的药物组合物符合鼻内给药所必须的高标准的稳定性和生物利用度，而且例如特别适合于多剂量鼻腔喷雾施放器中，如能够在几天或者几周的时间内给药一系列单个剂量的施放器。

还令人惊奇地发现，使用浓度升高的柠檬酸或其盐产生与包含降钙素的组合物的鼻内吸收特性有关的有益优点，并由此在鼻内给药后增强降钙素的生物利用度水平。另外还发现，使用浓度为约 10—50 mM 的柠檬酸或其盐增加了包含降钙素的组合物的稳定性，同时更高浓度的柠檬酸或其盐不具有相同的稳定作用。

本发明中所用的降钙素可为游离形式，或者是药物学上可接受的盐或复合物的形式，如药物学上可接受的酸加成盐形式。此等盐及复合物是已知的，而且具有与游离形式相同程度的活性及耐受性。适合用于本发明中的酸加成盐包括例如盐酸盐和醋酸盐。

上述组合物可根据本发明以滴剂或者喷雾剂的形式给药于鼻粘膜。但是，如以下所述，本发明的组合物优选以喷雾剂的形式给药，例如微细液滴的形式。

本发明的组合物当然还可包括其他的成分，特别是属于药物学上可接受的常规表面活性剂的成分。在此，根据本发明的另一个方面发现，使用通常与鼻内给药降钙素、特别是鲑降钙素有关的表面活性剂可增加经由鼻粘膜的吸收，并由此提高所得的生物利用率。

优选地，本发明的液体药物降钙素组合物包含药物学上可接受的并适合给药于鼻粘膜的液体稀释剂或者载体，最优选为盐水。

本发明的组合物可进行配制，以便可通过鼻腔途径给药。为此目的，组合物还可包含例如最小量的任意的其他成分或者所希望的赋形剂，例如其他的防腐剂或者例如纤毛刺激剂如咖啡因。

对于鼻内给药，通常优选柔和的酸 pH 值。本发明的组合物的 pH 优选为约 3—5，更优选为约 3.5—3.9，并最优选为 3.7。pH 的调节可通过添加合适的酸如盐酸来实现。

本发明的组合物还应具有合适的等张性和粘度。优选地，其渗透压为约 260—380 mOsm/L。鼻腔喷雾剂所希望的粘度优选低于 0.98 cP。

根据本发明的组合物还可包含常规的表面活性剂，优选非离子表面活性剂。

当使用表面活性剂时，其在本发明组合物中的量可根据所选的具体表面活性剂、具体的给药模式（剂如滴或喷雾剂）以及所希望的作用而变化。通常情况下，该表面活性剂的量为约 0.1 mg/ml—10 mg/ml，优选为约 0.5 mg/ml—5 mg/ml，并最优选为约 1 mg/ml。

根据本发明的方法给药的降钙素的量以及本发明组合物中的活性成分的量当然取决于所选择的具体降钙素、待治疗的病症、所希望的给药频率以及所希望的作用。

如以下实施例所述，发现根据本发明的技术，在鼻内给药后以血浆浓度测定的降钙素、特别是鲑降钙素的生物利用度令人惊奇地高。

对于根据本发明的鼻内给药，治疗将因此适当地包括给药约 50—400 MRC 单位、更优选约 100—200 MRC 单位的剂量，给药频率为约每日一次至每周三次。上述剂量通常是一次性给药，即、治疗将包括给药单个鼻内剂量，该剂量包含约 40—400 MRC 单位、更优选约 100—200 MRC 单位的降钙素。或者，该剂量可在一天中以一定的时间间隔分为 2—4 次给药，每次给药的剂量则包含约 10—200、优选 25—100 MRC 单位。

每次鼻内给药的总组合物量适当地包含约 0.05—0.15 ml，通常为约 0.1 ml。因此，根据本发明所用的组合物每 ml 适当地包含约 150—8000、优选 500—4000、更优选约 500—3000、还更优选约 1000—2500、并最优选 2200 MRC 单位的降钙素。

为进行鼻内给药，本发明的组合物优选放入带有能够将所包含的组合物施放至鼻粘膜的装置的容器内，例如放入鼻腔施放器装置。合适的施放器在本领域中是已知的，而且包括那些适合于将液体组合物以液滴或者喷雾的形式给药至鼻粘膜者。因为降钙素的给药剂量应尽可能地精



确控制，所以通常优选使用喷雾施放器，用该类型的施放器时易于精确调节给药量。合适的给药装置包括例如雾化器，如泵—雾化器和气溶胶分配器。对于后者，施放器将包含根据本发明的组合物以及适合用于鼻内施放器中的推进剂介质。雾化装置可装配有合适的喷雾调整器（adaptor），以向鼻粘膜转运所包含的组合物。此等装置在本领域中是已知的。

容器（如鼻内施放器）可包含对于单个鼻内给药剂量或者在数天或数周的时间内提供多个剂量而言足够的组合物。所输送的单个剂量优选如以上定义的。

本发明组合物的稳定性可通过常规方法来测定。如以下所述，用标准的分析测试测定，本发明组合物的降钙素含量在 50°C 下于 15 天后降低的量少于 50%。

### 实验设计—鼻内给药降钙素的方法以及血浆浓度的测量

组合使用氯胺酮和赛拉嗪麻醉重量为 225—250 g 的雌性 Wistar 大鼠，然后在颈总动脉中插入导管。该导管上固定三通阀，由该阀可对血液进行取样，并可用包含肝素的生理盐水替换血液。将微量移液管的尖部插入大鼠鼻腔中 8 mm，由此向大鼠鼻内给药经过配制的鲑降钙素（sCT）（5  $\mu$ g/25  $\mu$ l）。对于单剂量研究，给药 5  $\mu$ g 的 sCT。在多剂量研究中，在 0、30、60 和 90 分钟时分四次给药 sCT，每次的给药体积为 25  $\mu$ l，而总剂量为 20  $\mu$ g。

在单剂量研究中，在给药前以及给药后 5、15、30、60 和 120 分钟时收集血样。在多剂量研究中，在给药前以及首次给药后的 30、60、90、120 和 150 分钟时收集血样。在任何其他给药之前总是进行血样的收集。

将每个血样（0.5 ml）收集在 1 ml 经肝素化的注射器中，然后转移至冷冻的 1.5 ml 聚丙烯管中，该聚丙烯管包含 10  $\mu$ l 的肝素（500 U/ml）。

在约 3000 rpm、2—8℃下离心该管 20 分钟，然后将血浆上清液转移至在 -20℃下储存的微离心管中。用竞争性放射免疫分析法测量血浆中的 sCT 浓度。使等分的血浆样品和标准物在室温下与鼠抗 sCT 抗体一起保温 4 小时。随后，添加  $^{125}\text{I}$ -sCT，并在 2—8℃下保温过夜。下一天，用正常的兔抗血清和山羊抗兔抗体进行沉淀，由此分离结合抗体的  $^{125}\text{I}$ -sCT。与所得沉淀相关的放射活性用  $\gamma$  计数器测量。sCT 在血浆中的浓度与沉淀物的放射活性量成反比。

通过检查测定  $C_{\text{max}}$  值，并由血浆 sCT 浓度  $v$  时间所作的图中的曲线下面积计算生物利用度的值（相对于静脉注射）。

### 实施例 1

以下研究用于检查柠檬酸的浓度对鼻内给药的鲑降钙素的生物利用度及血浆浓度的影响。如上所述，在  $t=0$ 、20、60 和 90 分钟时，向大鼠鼻内给药在 0.85% 氯化钠、0.1% Tween 80、0.2% 苯乙醇、0.5% 苄醇以及变化量的柠檬酸中的 20  $\mu\text{l}$  的 rsCT (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )，其中 pH 调节为 3.7。在这些时间点给药 rsCT 之前以及  $t=120$  和 150 分钟时采取血样。所得的血浆样品通过放射免疫分析法分析 rsCT。在  $t=120$  分钟时检测到最大的 rsCT 浓度。该研究的结果示于表 1 中，其表明 rsCT 的生物利用度以及峰浓度随制剂中柠檬酸的浓度而变化。

表 1: 柠檬酸的浓度对鼻内给药于大鼠的鲑降钙素的生物利用度及血浆浓度的影响

柠檬酸 (pH 3.7) mM	生物利用度 (% ± sdev)	最大血浆 sCT (ng/ml ± sdev)
0	0.89 ± 0.19	1.10 ± 0.52
10	3.14 ± 1.77	3.66 ± 1.67
25	5.01 ± 2.34	5.11 ± 2.09
50	6.15 ± 1.31	6.05 ± 1.30
100	13.36 ± 3.38	12.98 ± 3.96

## 实施例 2

以下研究用于检查不同的防腐剂对鼻内给药的鲑降钙素的影响。如上所述, 在 t=0、30、60 和 90 分钟时, 向大鼠鼻内给药在 0.85% 氯化钠、0.1% Tween 80、以及 0.2% 苯乙醇与 0.5% 苄醇的防腐剂组合或 0.27% 对羟基苯甲酸甲酯与 0.04% 对羟基苯甲酸丙酯的防腐剂组合中的 20  $\mu$ l 的 sCT (200  $\mu$ g/ml)。该研究的结果示于表 2 中, 其表明添加不同的防腐剂对 rsCT 的生物利用度以及峰浓度没有显著的影响。

表 2: 防腐剂对鼻内给药于大鼠的鲑降钙素的生物利用度及血浆浓度的影响

防腐剂	生物利用度 (% ± sdev)	最大血浆 sCT (ng/ml ± sdev)
无	1.14 ± 0.87	1.24 ± 0.79
0.2% 苯乙醇-0.5% 苄醇	0.89 ± 0.19	1.10 ± 0.52
0.27% 对羟基苯甲酸甲酯- 0.04% 对羟基苯甲酸丙酯	1.08 ± 0.86	1.47 ± 1.46

### 实施例 3

以下研究用于检查柠檬酸的浓度对在 50°C 下储存不同时间的鲑降钙素的稳定性的影响。用盐酸或者所示量的缓冲柠檬酸将包含 sCT (200  $\mu$ g/ml)、0.25% 苯乙醇、0.5% 苄醇和 0.1% Tween 80 的鼻内制剂的 pH 调节为 3.7。在 50°C 下将该制剂储存在密封的玻璃容器中如下所示的时间，然后用高效液相色谱分析 sCT。结果示于表 3 中，其表明在没有柠檬酸时，制剂中的 sCT 量在研究开始后的 0—9 天之间稳步下降。在有柠檬酸 (10—50 mM) 时，sCT 的消失速度显著降低。但是，随着柠檬酸浓度的进一步增加，在 50°C 下储存于玻璃小瓶中的 sCT 的消失速度与制剂中缓冲柠檬酸的量成比例地增加。

表 3: 柠檬酸的浓度对在 50°C 下储存不同时间的 sCT 的稳定性的影响

%sCT 回收					
柠檬酸 (pH 3.7)	0 mM	10 mM	20 mM	50 mM	100 mM
50°C 下的天数					
0	100	100	100	100	100
3	83	94	91	90	87
6	53	90	87	83	77
9	24	82	78	73	66
15	22	74	68	61	20