

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

A61K 9/16

A61K 9/50



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95194963.2

[43]公开日 1997年8月20日

[11] 公开号 CN 1157562A

[22]申请日 95.9.6

[30]优先权

[32]94.9.9 [33]JP[31]216449 / 94

[32]94.12.14[33]JP[31]310291 / 94

[86]国际申请 PCT / JP95 / 01771 95.9.6

[87]国际公布 WO96 / 07399 英 96.3.14

[85]进入国家阶段日期 97.3.7

[71]申请人 武田药品工业株式会社

地址 日本大阪市

[72]发明人 猪狩康孝 山县丰

饭沼智 冈田弘晃

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 魏金玺 王景朝

权利要求书 2 页 说明书 18 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 含有一种肽金属盐的缓释制剂

[57]摘要

一种缓释制剂，它包含一种具有水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，以及包含一种具有生物可降解的高分子材料。本发明是一种缓释制剂，该制剂很有效地合并了一种具有水溶性肽类的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，并能抑制该水溶性肽类的生理活性物质的首次突然崩解效应，其中不包括内皮素拮抗剂。本发明中的缓释制剂经体内服用后能释放水溶性肽类的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，而同时能保留其生物活性。此外，在缓释制剂中的水溶性肽类的生物活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，能长时间保持稳定，而生物活性几乎没有丧失。

(BJ)第 1456 号

权 利 要 求 书

- 1、一种缓释制剂，包括
 - (a) 一种水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，以及
 - (b) 一种可生物降解的聚合物。
- 2、权利要求1的一种制剂，其中生理活性物质是水溶性肽或其衍生物。
- 3、权利要求2的一种制剂，其中肽是一种激素，细胞因子，造血因子，生长因子，酶，可溶性或增溶化受体，抗体，含肽抗原，凝血因子或粘附分子。
- 4、权利要求2的一种制剂，其中肽是一种激素。
- 5、权利要求4的一种制剂，其中激素是一种生长激素。
- 6、权利要求4的一种制剂，其中激素是一种胰岛素。
- 7、权利要求2的一种制剂，其中肽是一种细胞因子。
- 8、权利要求7的一种制剂，其中细胞因子是一种干扰素。
- 9、权利要求2的一种制剂，其中肽是一种生长因子。
- 10、权利要求1的一种制剂，其中多价金属盐是一种过渡金属盐。
- 11、权利要求1的一种制剂，其中多价金属盐是一种锌盐。
- 12、权利要求1的一种制剂，其中在20℃时多价金属盐对水的溶解度从约0至约0.1% (w/w)。
- 13、权利要求1的一种制剂，其中多价金属盐对水的溶解度约为0至约0.01% (w/w)。
- 14、权利要求1的一种制剂，其含有约0.1至约50% (w/w)多价金属盐。
- 15、权利要求1的一种制剂，其含有约1至约30% (w/w)多价金属盐。
- 16、权利要求1的一种制剂，其中可生物降解的聚合物是一种脂肪族聚酯。
- 17、权利要求16的一种制剂，其中脂肪族聚酯是乳酸与乙醇酸的聚合物。
- 18、权利要求17的一种制剂，其中乳酸与乙醇酸的组成比为100/0

至约 40/60(摩尔%)。

19、权利要求 18 的一种制剂, 其中的组成比为约 90/10 至约 45/55(摩尔%)。

20、权利要求 17 的一种制剂, 其中聚合物的重均分子量为约 3,000 至约 14,000。

21、权利要求 17 的一种制剂, 其中聚合物的重均分子量为约 3,000 至约 14,000。

22、权利要求 16 的一种制剂, 其中脂肪族聚酯是一种乳酸的均聚物。

23、权利要求 22 的一种制剂, 其中均聚物的重均分子量为约 3,000 至约 20,000。

24、权利要求 22 的一种制剂, 其中均聚物的重均分子量为约 3,000 至约 14,000。

25、权利要求 1 的一种制剂, 其中制剂是一种微胶囊。

26、权利要求 25 的一种制剂, 其中微胶囊可供注射用。

27、权利要求 1 的一种制剂, 它是一种可供注射的制剂。

28、水溶性肽的水不溶性或水微溶性金属盐类的生理活性物质, 其中不包括内皮素拮抗剂, 以及一种可生物降解的聚合物在制备缓释制剂的应用。

29、制备缓释制剂的方法, 包括将一种水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质, 其中不包括内皮素拮抗剂, 分散于含有一种可生物降解的聚合物的油相之中, 制备油包固体型乳剂, 将该油包固体型乳剂加入至水相之中, 制备水包油包固体型乳剂。然后再于水内干燥该水包油包固体型乳剂。

25

说明书

含有一种肽金属盐的缓释制剂

技术领域

- 5 本发明涉及一种缓释制剂，它包含一种具有水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，以及包含一种可生物降解的高分子材料。

发明背景

- 10 生理活性物质，特别是肽或其衍生物，在体内能显示出各种药理作用。通过化学合成，或利用诸如大肠杆菌类，酵母，动物细胞和仓鼠等生物体的基因工程和细胞工程技术，已能大量生产供药用的某些生理活性物质。但是，这些肽必需频繁服用，因为它们一般具有短的生物半衰期，因此造成病人注射方面显著的生理负担。为解决该问题，进行了各种努力，以开发缓释制剂。

15 在开发具有水溶性生理活性物质的缓释制剂，特别是水溶性肽(下文也称为“肽”)，第一个要解决的问题是控制肽的溶解度，即调节肽的释放速率。

- 20 国际专利申请号 500286/1991 的日译文出版物中披露了一种不溶性的锌-鱼精蛋白- α -干扰素复合物。

日本专利未审查出版物第 2930/1988 号披露一种包含聚交酯的系统，其中报道了一种大分子的多肽。

- 25 日本专利未审查出版物第 221855/1993 和第 172208/1994 号披露了一种技术，其中一种水溶性肽被转变成水不溶性肽盐，然后再将该盐悬浮于含可生物降解的高分子材料的有机介质中，以有效地完全包结水溶性的肽。在这些专利出版物中所用的水不溶性肽，是在水溶性肽分子的碱部分形成了一种有机酸盐，例如帕莫埃特(pamoate)鞣酸，硬脂酸和软脂酸。

- 30 虽然已经作了多种努力以生产具有水溶性生理活性物质的缓释制剂，如上所述，但是尚未获得满意的缓释制剂；因此需要开发一种缓释制剂，它能有效包含水溶性生理活性物质，抑制水溶性生理活性物质的

首次突然崩解效应(initial burst), 提供水溶性生理活性物质恒定释放速率, 并能保持水溶性生理活性物质的生物活性。

本发明的描述

- 5 本发明为解决上述问题进行了广泛研究, 发现一种缓释制剂, 其中当将水溶性肽类的生理活性物质, 不包括内皮素拮抗剂, 与一种可生物降解的高分子材料合并后, 能显著具有增加效价的作用, 并经活的生物体服用后, 几乎不显示出药物的突然崩解。该制剂的制备是通过生长一种水溶性肽的水不溶性的或水微溶性的多价金属盐类生理活性物质(下文也称为“复合物”),
- 10 其中不包括内皮素拮抗剂, 而该盐的形成是通过将具有酸基或水溶性盐水溶性肽类的生理活性物质(下文也称为生理活性物质), 不包括内皮素拮抗剂, 与一种水溶性的多价金属盐相结合而成; 再将该生理活性物质分散或溶于生物可降解的高分子材料之中。基于上述发现进行深入研究后, 发明人开发了本发明。
- 15 因此, 本发明涉及以下方面:
- (1) 一种缓释制剂, 其包括
 - (a) 一种水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类生理活性物质, 不包括内皮素拮抗剂, 以及
 - (b) 一种生物可降解的高分子材料,
 - 20 (2) 上述项目(1)中所述的一种制剂, 其中生理活性物质是一种水溶性肽或其衍生物,
 - (3) 上述项目(2)中所述的一种制剂, 其中肽是一种激素, 细胞因子, 造血因子, 生长因子, 酶, 可溶性或增溶化受体, 抗体, 含肽抗原, 凝血因子或粘附分子,
 - 25 (4) 上述项目(2)中所述的一种制剂, 其中肽是一种激素,
 - (5) 上述项目(4)所述的一种制剂, 其中的激素是一种生长激素,
 - (6) 上述项目(3)所述的一种制剂, 其中的激素是一种胰岛素,
 - (7) 上述项目(2)所述的一种制剂, 其中的肽是一种细胞因子,
 - (8) 上述项目 7 所述的一种制剂, 其中的细胞因子是一种干扰素,
 - 30 (9) 上述项目 2 所述的一种制剂, 其中的肽是一种生长因子,
 - (10) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其中的多价金属盐是一种过渡金属盐,

- (11) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其中的多价金属盐是一种锌盐,
- (12) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其中多价金属盐对水的溶解度在 20 °C 时, 从约为 0 至约为 0.1 % (w/w),
- (13) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其中多价金属盐对水的溶解度为约 0 至约 0.01% (w/w),
- (14) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其含有约 0.1% 至约 50 % (w/w) 多价金属盐,
- (15) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其含有约 1 % 至 30 % (w/w) 多价金属盐,
- 10 (16) 上述项目 1 所述的一种制剂, 其中可生物降解的高分子材料是一种脂肪族聚酯,
- (17) 上述项目 16 所述的一种制剂, 其中脂肪族聚酯是一种乳酸和乙醇酸的聚合物,
- (18) 上述项目 17 所述的一种制剂, 其中乳酸与乙醇酸组成比是从 100/0 至约 40/60(摩尔 %),
- 15 (19) 上述第 18 项所述的一种制剂, 其中的组成比从约 90/10 至约 45/55(摩尔 %),
- (20) 上述第 17 项所述的一种制剂, 其中聚合物的加权平均分子量为约 3,000 至约 20,000 ,
- 20 (21) 上述第 17 项所述的一种制剂, 其中高分子材料的重量平均分子量为约 3,000 至约 14,000 ,
- (22) 上述第 16 项所述的一种制剂, 其中脂肪族聚酯是一种乳酸的均聚物,
- (23) 上述第 22 项所述的一种制剂, 其中均聚物的重量平均分子量为约 25 3,000 至约 20,000 ,
- (24) 上述第 22 项所述的一种制剂, 其中均聚物的重量平均分子量为约 3,000 至约 14,000 ,
- (25) 上述第 1 项所述的一种制剂, 其中制剂是一种微囊,
- (26) 上述第 25 项所述的一种制剂, 其中微囊可供注射用,
- 30 (27) 上述第 1 项所述的一种制剂, 它是一种可供注射的制剂,
- (28) 水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质, 其中不包括内皮素拮抗剂, 以及一种可生物降解的高分子材料在生产一种

缓释制剂的应用，以及

(29) 生产一种缓释制剂的方法，包括将一种水溶性肽的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质，其中不包括内皮素拮抗剂，分散于含有可生物降解的高分子材料的油相中，以制备油包固体的乳剂，将该油包固体乳剂加至水相之中以制备水包油包固体的乳剂，然后再于水内干燥水包油包固体的乳剂。

顺便提及的是，本发明中的氨基酸，肽等的缩写是基于在相关领域所常用的，按照 IUPAC - IUB 委员会关于生化命名的规定而确定的，氨基酸的可能的光学异构体，除非另有指明，一般为 L - 异构体。

在水不溶性或水微溶性多价金属盐中的生理活性物质，带有一种酸基。在这里酸基例如可以是羧基或磺基。优选的生理活性物质是其带有一个肽键或一个氨基酸和酸基。酸基也可以来自于氨基酸。更为优选的是，生理活性物质是一种具有酸基或衍生物的水溶性肽。生理活性物质对水的溶解度在 25 °C 时是 1 % (w/w) 或更高。

优选的生理活性物质具有二个或更多的羧基。

生理活性物质的分子量为约 200 至 200,000，优选的是约 200 至约 50,000，更为优选的是约 500 至约 40,000。

代表性的生理活性物质的活性是具有激素作用。生理活性物质可以是中性的，合成的，半合成的或基因工程产品，或其衍生物。至于作用机理，这些生理活性物质可以是激动剂或拮抗剂。

生理活性物质，特别是本发明中的水溶性肽或其衍生物，包括激素，细胞因子，造血因子，生长因子，酶，可溶性或增溶化受体，一种抗体或其片断，一种含肽抗原，一种凝血因子，一种粘附分子，能结合于生理活性物质上受体的激动剂或拮抗剂，等等。

例如激素包括胰岛素，生长激素，促尿钠排泄肽，促胃酸激素，催乳激素，促肾上腺皮质激素(ACTH)，促甲状腺激素(TSH)，黄体化激素(LH)，促卵泡激素(FSH)，人绒毛膜促性腺激素(HCG)，莫替林肽(motilin)，激肽释放酶，等等。优选的激素是胰岛素和生长激素。

例如细胞因子包括淋巴因子，单因子等等。如淋巴因子包括干扰素(α ， β ， γ)，白介素(从 IL - 2 至 IL - 12)等等。如单因子包括白介素 - 1(IL - 1)，肿瘤坏死因子，等等。优选的细胞因子是淋巴细胞，更为优选的是干扰素(α ， β ， γ)。

例如造血因子包括红细胞生长素，粒细胞促克隆因子(G - CSF)，巨噬细胞促克隆因子(M - CSF)，血小板生长素，促血小板生长因子，巨核细胞增效剂等。

5 例如生长因子包括碱性或酸性或纤维生长因子(FGF)，及其家族(例如 FGF - 9 等)，神经细胞生长因子(NGF)，或其家族，类胰岛素生长因子(如 IGF - 1， IGF - 2)，骨形态形成蛋白(BMP)，或其家族等。

例如酶包括超氧化物歧化酶(SOD)，组织纤维蛋白溶酶原活化因子(TPA)等。

10 例如可溶性受体包括可溶性 IL - 6 受体，类胰岛素生长因子结合蛋白(IGFBP)，可溶性 TNF 受体，可溶性 EGF 受体，可溶性 IL - 1 受体等。

例如增溶化受体包括已知的受体，如 IL - 1 受体， IL - 6 受体，TNF 受体，或 Fas 配体等，通过基因工程的方法使其增溶化。

15 例如抗体包括人单克隆抗体，人 - 小鼠嵌合体的单克隆抗体，其中来源于小鼠的抗体变异区域结合于来源于人抗体的不变区域，及其片段等等。抗体的类型如可包括 IgM， IgG， IgE 等等。可被上述抗体所识别的抗原，可包括如血小板，病毒，等等。

例如凝血因子包括因子 VIII 等等。

例如粘附分子包括纤维糖蛋白(fibronectin)， ICAM - 1 等等。

20 此外，例如生理活性物质还包括内皮素， Arg-Gly-Asp-Ser(RGDS)，垂体腺苷酸环化酶活化多肽(DACAP)等等。

通过将其与水溶性多价金属相接触，生理活性物质被转变成其水不溶性或水微溶性的多价金属盐。

25 水溶性多价金属盐，可以是如二价，三价或四价金属等等，例如碱土金属(即钙，镁等)，过渡金属[即铁(II， III)，铜(II)，锌(II)等]， IIIb 族金属[即铝(II,III)等]， IVb 族金属[即锡(II,IV)等]等等。优选的多价金属是碱土金属盐或过渡金属盐，较为优选的是钙或锌盐，更为优选的是锌。

水溶性多价金属盐，包括多价金属与酸形成的盐，例如多价金属与无机酸形成的盐，以及多价金属与有机酸形成的盐。

30 多价金属与酸形成的盐，优选的是该盐在通常温度(20 ℃)下对水的溶解度不低于 20mg/ml，更为优选的是不低于 100mg/ml，以及更为优选的是不低于 200mg/ml。

与多价金属结合形成盐的无机酸，包括盐酸，硫酸，硝酸和硫氰酸

等。

与多价金属结合形成盐的有机酸，包括脂肪族羧酸和芳香酸。脂肪羧酸优选的是含 2 至 9 个碳原子的酸，包括脂肪族单羧酸，双羧酸，三羧酸等。这些酸可以是饱和或不饱和的。

5 例如脂肪族单羧酸包括，具有 2 至 9 个碳原子的饱和脂肪族单羧酸(如乙酸，丙酸，丁酸，戊酸，己酸，庚酸，辛酸，壬酸，癸酸等)以及具有 2 至 9 个碳原子的不饱和脂肪族单羧酸(如丙烯酸，丙炔酸，甲基丙烯酸，巴豆酸，异巴豆酸等)。

10 例如脂肪族二羧酸包括，具有 2 至 9 个碳原子的饱和脂肪族二羧酸(如丙二酸，丁二酸，戊二酸，己二酸，庚二酸，等等)以及具有 2 至 9 个碳原子的不饱和脂肪族二羧酸(如马来酸，富马酸，甲基马来酸，甲基富马酸等)。

例如脂肪族三羧酸包括，具有 2 至 9 个碳原子的饱和脂肪族三羧酸(如丙三羧酸，1，2，3-丁烷三羧酸等)。

15 上述脂肪族羧酸可含有 1 或 2 个羟基。这种脂肪族羧酸包括乙醇酸，乳酸，甘油酸，羟基丙二酸，苹果酸，酒石酸，柠檬酸等等。

优选的脂肪族羧酸是脂肪酸单羧酸，较优选的是具有 2 至 9 个碳原子的脂肪族单羧酸，更为优选的是含有 2 或 3 个碳原子的饱和脂肪族单羧酸。特别优选的脂肪族羧酸的例子包括乙酸等等。

20 例如芳香族羧酸包括，苯甲酸，水杨酸，等。优选的是苯甲酸。

多价金属与无机酸制成的盐，如无机酸的多价金属盐，例如可包括卤化物(如氯化锌，氯化钙)，硫酸盐，硝酸盐，硫氰酸盐等。

25 多价金属与脂肪羧酸制成的盐，如脂肪羧酸的多价金属盐，包括乙酸钙，乙酸锌，丙酸钙，乙醇酸锌，乳酸钙，乳酸锌，酒石酸锌等。优选的脂肪羧酸多价金属盐包括乙酸钙和乙酸锌。更为优选的是乙酸锌等。

多价金属与芳香酸形成的盐，如芳香酸多价金属盐，例子包括苯甲酸，水杨酸等，更为优选的是苯甲酸锌。

30 水不溶性或水微溶性多价金属盐类生理活性物质的生产，是通过在一种溶剂中将水溶性生理活性物质同水溶性多价金属盐混合而成。优选的混合方法是在水中进行。

在水中生理活性物质与水溶性多价金属盐的混合比(摩尔比)，例如可

以从 1: 1 至 1: 1000, 优选 1: 1 至 1: 100, 较为优选为 1: 1 至 1: 50, 更为优选的是 1: 1 至 1: 10。两种组分在水中的浓度可以任选, 条件是在各自溶解度的范围内组分的浓度要超过复合物的溶解度。

从上述混合所得水溶液的 pH 值必须保证生理活性物质的生理活性不受影响, 以及生理活性物质与水溶性多价金属盐的溶解度不致于降低得过多。虽然混合步骤一般是在蒸馏水中进行, 也可以按需要将水溶液调至弱酸性, 中性或弱碱性。

本文中提及的“为水不溶的或水微溶的”这句话并不意味着是不可逆的, 而是指可逆的, 它意味着水的溶解度很低。在一般温度下(20 °C), 水中的溶解度约从 0 至约 0.1% (w/w), 优选的是从约 0 至 0.01 % (w/w)。

如此方法获得的水不溶性或水微溶性多价金属盐类的水溶性生理活性物质, 按需要可经真空干燥或冰冻干燥后使用。

本发明中的缓释制剂, 水不溶性或水微溶性多价金属盐类生理活性物质的含量, 通常为约 0.1 至约 50 % (w/w), 优选的是约 1 至约 30 % (w/w)。

可生物降解的聚合物, 可用具有微溶或不溶于水的高分子量的聚合物来举例实施, 例如脂肪族聚酯(如从一个或多个 α -羟基羧酸, 如乙醇酸、乳酸、羟基丁酸等, 所合成的均聚物, 共聚物或其混合物), 羟基二元羧酸, 如苹果酸等, 羟基三元羧酸如柠檬酸等等, 以及其它的酯如聚 α -氰基丙烯酸酯, 聚氨基酸如聚 γ -苜基-L-谷氨酸等。这些聚合物可按合适的比例, 应用于混合物中, 聚合反应的类型可以是无规的, 嵌段的或接枝型的。

优选的生物可降解的聚合物是脂肪族聚酯(例如均聚物, 共聚物或其混合物), 该聚酯是从一个或多个 α -羟基羧酸如乙醇酸, 乳酸, 羟基丁酸等, 羟基二元羧酸如苹果酸等, 羟基三元羧酸如柠檬酸等以及其它羧酸合成而得。

在上述所提及的脂肪族聚酯中, 按照易进行生物降解和生物相容性, 优选均聚物或共聚物, 它们是从一个或多个 α -羟基羧酸所合成的(例如乙醇酸, 乳酸, 羟基丁酸等)。更为优选的是, 脂肪族聚酯是一种共聚物, 它是从一个或多个 α -羟基羧酸所合成的(例如乙醇酸, 乳酸, 羟基丁酸等)。并且这些共聚物也可用于混合物中。

本发明中生物可降解的聚合物, 是按通常已知的方法生产的。

虽然上述的 α -羟基羧酸可以是D-，L-或D，L-构型，优选的是D-/L-构型之比(摩尔%) 在约75/25至约25/75范围之内。更为优选的D-/L-构型之比(摩尔%)为约60/40至约30/70。

例如上述的 α -羟基羧酸共聚物，包括乙醇酸与另一个 α -羟基酸所形成的共聚物，优选乳酸或2-羟基丁酸。

α -羟基羧酸共聚物优选的是，一种乳酸-乙醇酸共聚物或一种2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物。

更为优选的是， α -羟基羧酸共聚物为一种乳酸-乙醇酸共聚物。

关于乳酸-乙醇酸共聚物，优选的含量比(乳酸/乙醇酸)(摩尔%)为约100/0至约40/60。较为优选的比值为90/10至约45/55，更为优选的是80/20至约45/55。乳酸-乙醇酸共聚物的重量平均分子量为约3,000至约20,000，优选的是约3,000至约14,000，更为优选的是约3,000至约12,000。

并且乳酸-乙醇酸共聚物的分散度(重均分子量/数均分子量)，优选的是约1.2至约4.0，更为优选的是约1.5至约3.5。

乳酸-乙醇酸共聚物可按已知方法合成，例如在日本专利未审查出版物第28521/1986号中所述的方法。优选的是，共聚物通过无催化剂的脱水缩聚法合成。

关于2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物，优选的乙醇酸的量从约10%至约75%(摩尔)，而剩余部分为2-羟基丁酸。较优选的是，乙醇酸的量从约20至约75%摩尔，更为优选的是约30至约70%摩尔。2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物的重均分子量，优选为2,000至20,000。2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物的分散度(重均分子量/数均分子量)优选为1.2至4.0，更为优选的是约1.5至3.5，2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物，可按已知的方法合成，如日本专利未审查出版物第28521/1986所描述的方法。共聚物的合成优选无催化剂脱水缩聚法。

上述 α -羟基羧酸均聚物，优选的例子包括乳酸均聚物。乳酸均聚物重均分子量约为3,000至约20,000，优选约3,000至约14,000。乳酸均聚物可按已知方法合成，如日本专利未审查出版物第28521/1986号所描述的方法。均聚物的合成优选无催化剂的脱水缩聚法。

上述2-羟基丁酸-乙醇酸共聚物，可与聚乙酸混合使用。虽然聚乳酸可以是D-或L-构型，或其混合物，优选的D-/L-构型的比例

(摩尔%)应在约 75/25 至约 20/80。较为优选的 D - /L - 构型(摩尔%)的比例为约 60/40 至约 25/75，优选的是 55/45 至约 25/75。聚乳酸重均分子量优选约 1,500 至约 20,000，更为优选的是约 1,500 至 10,000。并且聚乳酸的分散度，优选 1.2 至 4.0，更为优选的为约 1.5 至 3.5。

5 已知两种方法之比聚乳酸：交酯，即乳酸的一种二聚体，经开环聚合；以及乳酸的脱水缩聚。为获得本发明中的相对低分子量的聚乳酸，优选乳酸的直接脱水缩聚法。该方法见日本专利未审查出版物第 28521/1986 号。

当使用 2 - 羟基丁酸 - 乙醇酸共聚物和聚乳酸的混合物时，它们的混合比约为 10/90 至约 90/10(重量%)。优选的混合比为约 20/80 至 80/20，更为优选的是 30/70 至 70/30。

在本说明书中，重均分子量定义是，用 9 个聚苯乙烯作为参照物，以凝胶渗透色谱(GPC)测得的分子量，9 个参照物的重均分子量是 120,000，52,000，22,000，9,200，5,050，2,950，1,050，580 和 162。基于 GPC 的测定计算数均分子量。从重均分子量和数均分子量，计算分散度。用 GPC 柱 KF 804L × 2(由 Showa Denko 公司产)和 RI 测检仪 L - 3300(由 Hitachi 有限公司产)及氯仿作为流动相进行测定。

由无催化剂脱水缩聚所合成的上述共聚物，通常具有一个末端羧基。

20 在本发明中，可生物降解的聚合物，优选具有末端羧基。

具有末端羧基的可生物降解的聚合物，其由 GPC 测定出的数均分子量与由末端基团测定出的数分子量几乎一致。

通过定量测定末端基团，再按下法计算数均分子量：

25 将约 1 至 3g 的可生物降解的聚合物，溶于丙酮(25ml)和甲醇(5ml)的混合溶剂中，将该溶液以 0.05N 氢氧化钾醇溶液快速滴定，于室温搅拌，用酚酞作为指示剂，测定末端羧基含量；利用下列方程式计算基于末端基定量法的数均分子量：

基于末端定量法的数均分子量 = $20,000 A/B$

A：可生物降解的聚合物的重量

30 B：达到滴定终点后，加入的 0.05N 氢氧化钾醇溶液的量(ml)。

例如，具有一个末端羧基并以无催化剂脱水缩聚法从一个或多个 α - 羧基酸合成的聚合物，其基于 GPC 测定法所得数均分子量与基于末端

定量测定法所得数均分子量几乎相同。另一方面，末端基本上无羧基，并且由催化剂经开环聚合从环状二聚体合成的聚合物，其基于末端定量测定法所得数均分子量，显著高于基于 GPC 测定所得数均分子量。这一差别使得人们可能明确地区分具有一个末端羧基与不具有末端羧基的聚合物。

5 基于末端基团定量法所得的数均分子量是一个绝对值，而基于 GPC 测定所得的数均分子量是一个相对值，它随各种分析方法的不同而变化（例如，流动相的种类，柱子的种类，参照物，峰宽的选择，基线的选择等）；因此将后者以绝对的数字来表示是困难的。但是，当基于 GPC 测定所得数均分子量与基于末端基团定量而得数均分子量几乎相同时，这意味着基于末端基团定量所得数均分子量，是在基于 GPC 测定所得数均分子量的约 0.5 至约 2 倍范围内，优选的是从约 0.8 至约 1.5 倍。并且，当基于末端基团定量法所得的数均分子量，显著高于基于 GPC 测定法所得的分子量时，这意味着基于末端基团定量法所得数均分子量，为基于 GPC 测定所得数均分子量的约 2 倍以上。

10 本发明中缓释制剂的制备，是将生理活性物质和一种水溶性的多价金属盐混合而制成的一种水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质，分散于可生物降解的聚合物中而成。制备缓释制剂的方法，包括水内干燥法，相分离法，喷雾干燥法，及其改良法。

20 下面介绍制备缓释制剂的方法，例如微胶囊。

(i) 水内干燥法(o/w 法)

25 在该方法中，首先制备溶于一种有机溶剂的可生物降解的聚合物的溶液。用来制备本发明中缓释制剂的有机溶剂，最好具有不超过 120 °C 的沸点。该有机溶剂包括卤代烃（例如，二氯甲烷，氯仿，四氯化碳等），醇（例如，乙醇，甲醇），乙腈等。它们可按合适的比例混合使用。优选的有机溶剂是二氯甲烷和乙腈，更为优选的是二氯甲烷。在有机溶剂的溶液中，生物可降解的聚合物的浓度，通常为约 0.01 至约 80 % (w/w)，较为优选的是 0.1 至约 70 % (w/w)，更为优选的是约 1 至约 60 % (w/w)，这依赖于可降解聚合物的分子量，有机溶剂的种类等。

30 按需要将水不溶性或水微溶性多价金属盐类的生理活性物质冰冻干燥或真空干燥后，再加到或溶解至含上述制备的可生物降解的聚合物的有机溶剂的溶液之中。在这一步操作中，设计加入复合物的量，使得复

合物与可生物降解的聚合物的重量比达约 1: 2, 优选的是约 1: 3。

将所得有机溶剂的溶液加入至水相中, 形成一种 o/w 乳剂, 用阔锥形机械搅拌器或类似的装置搅拌, 再蒸去油相中的溶剂, 得微胶囊。水相的体积通常选择是油相体积的约 1 至约 10,000 倍范围, 优选的是约 2 至约 5,000 倍, 更为优选的是约 5 至约 2,000 倍。

可以将乳化剂加入至外部水相中。乳化剂可任选, 只要它能形成一种稳定的 o/w 乳液。这种乳化剂的例子包括阴离子表面活性剂, 非离子型表面活性剂, 聚氧亚乙基蓖麻油衍生物, 聚乙烯吡咯烷酮, 聚乙烯醇, 羧甲基纤维素, 卵磷脂, 明胶, 透明质酸等。这些也可按需要混合使用。在外水相中乳化剂的浓度优选的是约 0.001 至约 20 % (w/w), 较为优选的是约 0.01 至约 10 % (w/w), 更为优选的是约 0.05 至 5 % (w/w)。

在上面描述的 o/w 方法中, 微胶囊的制备也可这样进行, 即将复合物分散于含可生物降解的聚合物的有机溶剂溶液之中, 即 s/o/w 法。

15 (ii) 水内干燥法(w/o/w 法)

在该方法中, 首先制备可生物降解的聚合物在有机溶剂中的溶液。在有机溶剂的溶液中可生物降解的聚合物的浓度, 通常约为 0.01 至约 80 % (w/w), 优选约 0.1 至约 70 % (w/w), 更为优选的是约 1 至 60 %, 这要视可生物降解的聚合物的分子量, 有机溶剂的种类等而定。用复合物的水分散体, 作为内层水相。复合物在水分散体中的浓度为, 例如, 约 10 至约 90 % (w/v)。用阔锥形机械搅拌器, 均浆器等, 按已知的分散方法, 将上述复合物的水分散体乳化并分散于可生物降解的聚合物的有机溶剂溶液之中, 制成 w/o 乳剂。这一操作步骤按照内层水相与可生物降解聚合物之重量比达 1: 2, 优选约达 1: 3 比例进行。内层水相与可生物降解聚合物的有机溶剂溶液之比, 为 1: 1,000 至 1: 1(v/v), 优选 1: 100 至 1: 5(v/v), 更为优选的是 1: 50 至 1: 5(v/v)。

将如此制备的 w/o 乳剂, 加入至另一水相之中, 制成 w/o/w 乳剂, 再蒸去油相中的溶剂, 得到微胶囊。这一操作步骤按照上述的第(i)项进行。

30 本发明中缓释制剂, 优选使用微粒形。这是因为当病人以普通的皮下或肌肉注射给药时, 该缓释制剂不会引起过于疼痛。缓释制剂的平均粒径, 例如, 可以从约 0.1 至约 300 μ m, 优选约 1 至约 150 μ m, 更为

优选的是约 2 至约 100 μm 。

在本说明书中，微粒形的缓释制剂也称为微胶囊。

本文中使用的术语“微胶囊”也可以称之为“微球”。

5 本发明中的缓释制剂给药方式，可以微胶囊的形式，或以各种非口服制剂的剂型(例如，肌肉内，皮下或内脏注射或其它可能的剂型，鼻腔，直肠或子宫等经粘膜给药的制剂)，或口服制剂(例如，胶囊如硬胶囊，软胶囊等，固体制剂如颗粒和粉末等，液体制剂如悬浮液等)。

10 在本发明中，缓释制剂优选注射剂型。当缓释制剂是微胶囊时，例如，它可以通过微胶囊悬浮于水中，再加入分散剂(如表面活性剂吐温 80 和 HCO - 60，多糖如羧甲基纤维素，藻酸钠和透明质酸钠等)，防腐剂(如甲基帕洛宾(paraben)，丙基帕洛宾等)，等渗剂(如氯化钠，甘露醇，山梨醇，葡萄糖等)等添加剂，制成缓释制剂的水悬浮液，供注射用。或者，通过分散微胶囊，再加入植物油如芝麻油或玉米油，也可再添加或不添加磷脂，如卵磷脂，或中等链长的甘油三脂肪酸酯(如 MIGLYOL
15 812)，制备本发明中缓释制剂的油悬浮液，以供注射用。

当缓释制剂是微胶囊时，只要其分散度和注射针头满足供注射悬浮液的需要，缓释制剂的平均粒子大小可选择在从 0.1 至约 300 μm 的范围之间。优选的粒子大小在从 1 至约 150 μm 范围，更为优选的是约 2 至 100 μm 。

20 上述微胶囊可制成消毒制剂，消毒方法不受局限。该方法可以是整个生产过程是消毒的，可以用 γ 射线作为消毒源，也可以添加防腐剂。

本发明中的缓释制剂，因其低毒性，可被安全用于哺乳动物上(例如，人，小牛，猪，狗，猫，小鼠，大鼠，兔等)。

25 按照所用的生理活性物质，本发明中的缓释制剂的适应征可以变化。例如，当所用的生理活性物质是胰岛素时，本发明中的缓释制剂能有效用于治疗与预防糖尿病；当所用的生理活性物质是 α 干扰素时，可用于肾癌和丙肝等的治疗；当生理活性物质是红细胞生长素时，可用于贫血等的治疗；当生理活性物质是生长激素时，可用于生长障碍的治疗；当生理活性物质为促粒细胞克隆因子时，可用于治疗癌症化疗后的中性
30 白细胞减少症；当生理活性物质是红细胞生长素时，本发明中的缓释制剂，对于促进自体输血后的造血也是有效的。

按照生理或者物质的含量和类型，生理活性物质释放的持续时间，

作用于何种疾病，受试动物，以及其它因素的不同，来设定缓释制剂的量，使得生理活性物质能发挥作用。按照需要选择生理活性物质的给药量，当制剂是一周量时，每个成人的给药范围是每公斤体重从 0.0001 至约 10mg。按照需要，更为优选的范围是每公斤体重约从 0.0005 至约 5 1mg。

按需要，对每个成人缓释制剂优选的给药范围是约 0.0005 至约 50mg/kg。按需要更为优选的范围是从约 0.0025 至约 10mg/kg。按照生理活性物质的类型，含量与剂型的不同，生理活性物质释放的持续时间，需治疗的疾病，受试动物以及其它因素的不同，选择合适的给药次数，10 例如每周一次，每二周一次或每四周一次。

虽然本发明中的制剂，可以在普通温度或在阴冷的地方贮藏，优选的是将它贮藏于阴冷的地方。这里提到的普通的温度和阴冷地方的定义，是按照日本药典中指明的，普通温度指 15 至 25 °C，阴冷的地方指 15 °C 以下。

15

实施本发明的最佳方式

下面的例子更详细地描述了本发明的内容，当然并不局限于这些例子。

20 参考例 1

将 0.5g 猪胰岛素(27.3U/mg，产于荷兰的 DIOSYNTH 公司)溶于 22ml，100mM 的氢氧化钠水溶液之中，与 1g 乙酸锌(二水合物)在 10ml 的蒸馏水的溶液混合，于室温放置 1 小时。于约 3,000 rpm(05PR-22 型，日立有限公司产)离心后，弃去上清液。将残渣再分散于蒸馏水中，再进行离心。将上清液弃去后，将少量蒸馏水加至残渣中，再冰冻干燥，得 25 干粉状猪胰岛素的锌盐粗品约 1g。

为了测定所获得粉末中的胰岛素的含量，将粉末用含 30 % 乙腈的 50mM EDTA 溶液提取，振摇 3 小时，再用高效液相色谱法定量(HPLC)。结果表明，每 100mg 干粉含猪胰岛素 47.6mg。

30

参考例 2

将 104g 亚硝基乙腈尿素，慢慢一点一点地加入至 168ml 40 % 氢氧

化钾水溶液和 1,000ml 乙醚的混合物之中，同时将混合物于冰冷却下搅拌。将得到的黄色醚层分出，加入粒状氢氧化钾干燥。再除去氢氧化钾，得 900ml 重氮乙烷溶液。

5 将 130g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸/乙醇酸 = 50/50(摩尔 %))，重均分子量约为 5,800)溶于 1,900ml 的二氯甲烷中，搅拌，冷却。在冰冷却条件下，将上述重氮乙烷溶液逐滴加入，再于室温搅拌 2 小时。将混合物放置过夜后，减压蒸除溶剂；于室温下将残渣经真空干燥，得 131g 乳酸 - 乙醇酸共聚物的乙酯。

10 参考例 3

将 1mg 人生长激素(美国 Biotechnology General 公司产)在 0.9ml 蒸馏水的溶液，与 9.98，29.43，49.88，69.84，79.81 或 99.77 μ g 乙酸锌(=水合物)在 0.1ml 蒸馏水的溶液混合。锌原子与生长激素的摩尔比为 1，3，5，7，8 和 10。在摩尔比为 5 时，约 60 % 人生长激素沉淀出来，在摩尔比为 7 或更多时，几乎 100 % 人生长激素都沉淀出来。

参考例 4

于 70 - 80 $^{\circ}$ C，将 1g 优普拉德(leuprolide)乙酸酯(TAP - 44)和 157.5mg 明胶，溶于 1ml 蒸馏水中。将 21g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(由 7.85g 乳酸 - 乙醇酸共聚物溶于 13.15g 二氯甲烷制成，其中乳酸/乙醇酸为 75/25，摩尔 %，粘度为 0.142 至 0.169cP)溶液，加入至上述温热的水溶液之中，其温度比明胶水溶液的温度稍高。将该混合物置于一个致密的匀浆器中乳化几分钟以上，得 w/o 型乳剂。将所得 w/o 型乳剂冷至 10 至 20 $^{\circ}$ C，倒入 5000ml 0.1% (w/v)聚乙烯醇的水溶液中，其溶液的温度调至 10 至 20 $^{\circ}$ C，将混合物用阔锥形混匀器乳化，得 w/o/w 型乳剂。将这种 w/o/w 型乳剂于室温(15 至 30 $^{\circ}$ C)搅拌，蒸去二氯甲烷，得固化的内层 w/o 型乳剂，然后再以离心收集微胶囊。将这些微胶囊再分散于蒸馏水中，进一步离心，洗去过量的药物和聚乙烯醇。将回收的微胶囊悬浮于少量蒸馏水中，将 1.5g D - 甘露醇加入并溶于该悬浮液之中。将所得的悬浮液减压下冰冻干燥，得粉末状微胶囊。

冻干后，将所得的粉末微胶囊进一步于 50 $^{\circ}$ C 减压干燥，即比在基质成分乳酸 - 乙醇酸共聚物 T mg 温度高 3 $^{\circ}$ C 进行，共需 24，48，96 或

120 小时，得粉末状缓释微胶囊。

例 1

5 将 1ml 乙酸锌(二水合物)，(200mg/ml)和 1ml 1N 氢氧化钠，加入至 200ml α 干扰素(含 400 亿 IU)水溶液之中；混匀后，将混合物于 4 °C 放置过夜。于 3,000 rpm 离心，收集不溶性的复合物，冰冻干燥，得约 200mg 干扰素 α 的锌盐粗品。

10 将上述 200mg α 干扰素锌盐粗品，加入至 1.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸/乙醇酸之比为 50/50，分子量为 5,800，由 Wako 纯化学工业公司生产)和在参考例 2 中获得的 1.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物的乙酯化产物，在 4ml 二氯甲烷中的溶液之中，再以均浆器(Polytron 产)搅拌约 30 秒钟，得 s/o 型乳剂。将该乳液倒入预先调至 18 °C 的 700ml 0.1% (w/w)聚乙烯醇的水溶液之中(EG - 40，由日本合成化学工业公司生产)，再于一个阔锥形混匀器中以 6,000 rpm 搅拌，得 s/o/w 乳剂。将该乳剂于室温搅拌 3 小时，
15 使二氯甲烷挥发及油相固化。接下来于约 2,000 rpm (05PR - 22，日立有限公司产)离心，弃去上清液。将所得残渣再一次分散于蒸馏水中，离心。收集微胶囊，再分散于含 50mg D - 甘露醇的少量蒸馏水中，将分散物冻干，得粉末状微胶囊。

20 例 2

将 3.6g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸/乙醇酸为 75/25，摩尔%，重均分子量 13,585，数均分子量 4,413，由 Wako 纯化学工业公司生产)溶于 6.6g (5ml)二氯甲烷之中。将从参考例 1 中所获得的 420mg 猪胰岛素锌盐粗品(含 200mg 猪胰岛素)分散于 6.6g (5ml)二氯甲烷中。将上述两种溶液混
25 合，并置一均浆器(Dolytron)搅拌约 10 秒钟，得 s/o 型乳剂。将该乳剂倒入预先调至 18 °C 的 800 ml 0.1% (w/w)聚乙烯醇(EG - 40，由日本合成化学工业公司生产)水溶液中，再于一个阔锥形混匀器中于 6,000 rpm 搅拌，得 s/o/w 乳剂。将该乳剂于室温搅拌 3 小时，使二氯甲烷蒸发以及使油相固化。于约 2,000 rpm 离心(05PR-22 型，日立有限公司产)后，弃去
30 上清液。将残渣再分散于蒸馏水中，离心。将收集得的微胶囊，再重新分散于含 50mg D - 甘露醇的少量蒸馏水中，将分散物冰冻干燥，得粉末状微胶囊(约回收 3g)。

为了测定所得微胶囊中胰岛素的含量，将该粉末以含 30 % 乙腈的 50mM EDTA 溶液振摇提取 3 小时，再以高效液相色谱法(HPLC)定量。结果表明，每 100mg 微胶囊中含 6.2mg 胰岛素。

5 例 3

将 1g 氯化锌一点一点地加入至 8ml 红细胞生长素注射溶液中(Espo™ 注射液 3000，由 Sankyo 公司生产)(含 12,000IU)。将混合物于室温放置 1 小时。于 3,000 rpm 离心，将沉淀物再分散于蒸馏水中，离心得沉淀。将少量蒸馏水加入到沉淀中，再冻干，得 60mg 红细胞生成素锌盐粗品和白蛋白锌盐粗品混合物，为粉末状。

将上述红细胞生成素锌盐粗品和白蛋白锌盐粗品混合物 60mg，加入至在 1.5ml 二氯甲烷中的 0.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物溶液(乳酸/乙醇酸之比为 50/50，分子量 14,000，由 Wako 纯化学工业公司生产)，再用均浆器(Polytron)搅拌约 30 秒，得 s/o 型乳剂。将该乳剂按例 1 中所述的相同方式处理，得 125mg 粉状微胶囊。

例 4

将人生长因子(Genotropin™ 16IU，由 Sumitomo 制药公司生产)溶于 1ml 蒸馏水中。将 100μl 氯化锌水溶液(10mg/ml)加入至该溶于之中；将该混合物于室温放置 1 小时，然后离心；将沉淀再分散于蒸馏水中，离心得沉淀。将少量蒸馏水加至该沉淀之中，再冰冻干燥，得粉末状人生长激素锌盐粗品 5.6mg。

将 5.6mg 上述人生长激素锌盐粗品，加入至 0.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸/乙醇酸之比为 75/25，分子量 9,800，由 Wako 纯化学工业公司生产)在 1.5ml 二氯甲烷的溶液之中，再用一个均浆器(Polytron)搅拌约 30 秒，得 s/o 型乳剂。再按例 1 中相同的方法处理，得 121mg 粉末状微胶囊。

例 5

将 10ml (含 3×10^8 IU)促粒细胞克隆因子(G - CSF)注射溶液(产于美国 Amgen，商标名 Filgrastin Neupogen)，用氢氧化钠稀水溶液中和后，加入 1ml 氯化锌(10mg/ml)水溶液；将该混合物于室温放置 1 小时。然后

再离心；将沉淀再分散于蒸馏水中，离心得沉淀。将少量蒸馏水加入至沉淀之中，再冰冻干燥，得粉末状促粒细胞克隆因子锌盐粗品 4mg。

5 将 4mg 促粒细胞克隆因子锌盐粗品，加入至 0.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸 - 乙醇酸之比为 50/50，分子量 8,000，由 Wako 纯化学工业公司生产)在 1.5ml 的二氯甲烷的溶液中，在用一个均浆器(Polytron)搅拌约 30 秒，得 s/o 型乳剂。将该乳剂按例 1 中所数的相同方法处理，得粉末状微胶囊 110mg。

例 6

10 将 5.21mg (26U/mg)人胰岛素(人重组胰岛素，购自 Wako 纯化学工业公司)溶于 0.63ml 的 57mM 盐酸水溶液中后，将 0.35ml 0.05N 氢氧化钠水溶液加入，得几乎为中性 pH 的人胰岛素溶液。将 0.2ml 乙酸锌(20mg/ml)水溶液加至上述溶液之中，于 4 °C 放置过夜。然后将混合物于约 3,000 rpm 离心；将沉淀再分散于蒸馏水中，离心得沉淀。加入少量蒸馏水至该沉
15 淀之中，再冻干，得 11mg 粉末状人胰岛素锌盐粗品。

将上述 11mg 人胰岛素锌盐粗品，加入至 0.5g 乳酸 - 乙醇酸共聚物(乳酸/乙醇酸之比为 50/50，分子量为 6,000，购自 Wako 纯化学工业公司)在 1.5ml 二氯甲烷的溶液之中，用一均浆器(Ploytron)搅拌约 30 秒，得 s/o 乳液。将该乳剂按例 1 中所述的相同方法处理，得粉末状微胶囊
20 105mg。

比较例

25 将 100mg 无锌人胰岛素[锌含量低于 0.0001% (w/w)]加入至 0.9g 乳酸 - 乙醇酸共聚物[乳酸/乙醇酸之比为 50/50，摩尔%，重均分子量为 6,000，由 Wako 纯化学工业公司生产]在 1.5ml 二氯甲烷中的溶液，再用一均浆器(Polytron)搅拌约 10 秒钟，得 s/o 乳剂。将该乳剂按例 1 中所述的相同方法处理，得粉末状微胶囊(470mg)。

30 为测定所获得微胶囊中胰岛素的含量，将粉末以含乙腈的 50mM EDTA 溶液提取振摇 3 小时，再用高效液相色谱(HPLC)法定量。结果表明，每 100mg 微胶囊含胰岛素 8.7mg。

实验例 1

将例 2 中所得粉末状微胶囊 323mg，分散于 1ml 分散剂中，供注射用(每 ml 蒸馏水中溶解 5mg 羧甲基纤维素，1mg 聚乙氧基醚 80，和 50mg 甘露醇)。将所得分散液经皮下注射至 6 周龄雄性大鼠的后背(每只大鼠注射胰岛素约 20mg)。注射后，于恒定时间间隔从尾部收采血样，并以酶免疫试剂盒(EIA 法)(由 Sanko Junyaku 公司生产)测试血清中猪胰岛素的浓度。注射后一周后，可测出血清中具有活性的猪胰岛素。

实验例 2

将例 4 所得粉末状微胶囊 70mg，分散于 0.5ml 分散剂中，以供注射用(每升蒸馏水含 5g 羧甲基纤维素，2g 聚乙氧基醚 80，和 50g 甘露醇)。将所得分散液，经皮下注射至 6 周龄雄性 SD 大鼠的后背(每只大鼠约注射 3mg 生长激素)。注射后，于恒定时间间隔，采集尾血样，以放射免疫学试验法测定血清中生长激素的浓度。注射一周以上，可测出血清中的活性生长激素。

15

比较实验例

将上述比较例中所获的粉末状微胶囊 154.7mg，分散于 1.75ml 分散剂之中，以供注射用(每 ml 蒸馏水中溶解 5mg 羧甲基纤维素，1mg 聚乙氧基醚 80，和 50mg 甘露醇)。将所得分散液经皮下注射至 6 周龄雄性 SD 大鼠的后背(每只大鼠约注射 44mg 胰岛素)。注射后，于恒定时间间隔，采集尾血样，以酶免疫试验法(EIA)测定血清中胰岛素的浓度。注射后仅 1 天，即测出活性胰岛素。

工业实用性

25 按照本发明，可提供一种能高效包含生理活性物质，并抑制生理活性物质首次突然崩解效应的缓释制剂。本发明中的缓释制剂，在体内给药后，能释放出生理活性物质，同时能保留其生物活性。此外，缓释制剂中的生理活性物质能长期保持稳定，而其生物活性不会丧失。