



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94108523.6

[51]Int.Cl⁶

A61K 38/00

[43]公开日 1996年1月24日

[22]申请日 94.7.20

[71]申请人 开纳顿有限公司

地址 爱尔兰都柏林

[72]发明人 沙拉贝W·沙拉贝 史蒂文A·杰克逊
雅克-皮埃尔·莫罗

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 林蕴和

A61K 9/22 A61K 9/52

A61K 47/34 C08G 63/02

C08G 63/78

权利要求书 4 页 说明书 23 页 附图页数 3 页

[54]发明名称 可生物降解聚酯和生物活性多肽的离子性分子轭合物

[57]摘要

公开一种持续释放的药用组合物。该组合物包括一个含一个与活性多肽离子性地轭合着的游离COOH基团的聚酯，所述活性多肽则含有至少一个有效离子源胺，组合物中的多肽的至少50%（重量）是与聚酯离子性地轭合着的。

权 利 要 求 书

1. 一种含聚酯的组合物，其特征在于，所述聚酯含一个或多个与含至少一个离子源胺的生物活性多肽发生离子性轭合的游离COOH基团，存在于所述组合物中的至少50%(重量)的多肽与所述聚酯发生离子性轭合。

2. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯中的羧基与羟基之比大于1。

3. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯由从下列化合物组中选出的成分构成：L-乳酸，D-乳酸，DL-乳酸， ϵ -己内酯，1,4-二噁烷-2-酮， ϵ -己酸，草酸亚炔酯，草酸环亚炔酯，琥珀酸亚炔酯， β -羧基丁酸酯，有取代或无取代的碳酸三亚甲酯，1,5-二氧杂环庚-2-酮，1,4-二氧杂环庚-2-酮，乙交酯，乙醇酸，L-丙交酯，D-丙交酯，DL-丙交酯，内消旋-丙交酯和任一光学活性异构体，或它们的外消旋体或共聚体。

4. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯用戊二酸酐进行部分酸端基化。

5. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯用戊二酸酐进行全部酸端基化。

6. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯的平均聚合度在10~300之间。

7. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的聚酯在氯仿中的粘度约为0.05~0.7dl/g，平均分子量约为1200~40000。

8. 如权利要求1所述的组合物，其特征在于，其中所述的生物活性多肽占所述离子性分子轭合物的总重量的1~50%。

9. 如权利要求 1 所述的组合物, 其特征在于, 该组合物中的多肽的 85% 以上与聚酯离子性辄合。

10. 如权利要求 1 所述的聚合物, 其特征在于, 其中所述的多肽选自下列化合物组: LHRH, 生长激素释放抑制因子, bombesin (一种促细胞分裂剂)/GRP, 降钙素, 缓激肽, MSH, GRF, 糊精, 速激肽, 胰泌素, PTH, CGRP, neuromedins (神经激肽), PTHrP, 高血糖素, 神经降压素, ACTH, GHRP, GLP, VIP, PACAP, 脑啡肽、PYY, 蠕虫素, P 物质, NPY, TSH 和它们的类似物或片断。

11. 如权利要求 1 所述的组合物, 其特征在于, 其中所述的离子性辄合物具有在至少 5 日期间于体内释放有效治疗剂量的所述多肽的能力。

12. 一种合成组合物的方法, 其特征在于, 它包含(a) 提供聚酯和含至少一个有效离子源胺的生物活性多肽, 和(b) 将所述聚酯与所述多肽进行离子性辄合以形成离子性分子辄合物, 其中的多肽离子性地被聚酯辄合。

13. 如权利要求 12 所述的方法, 其特征在于, 组合物中的多肽的至少 50%(重量) 是与聚酯作离子性辄合的。

14. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯具有酸端基化的羟基端基。

15. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基部分地被戊二酸酐酸端基化。

16. 如权利要求 14 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基全部被戊二酸酐酸端基化。

17. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯在合成时使用羟基聚羧酸链引发剂。

18. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯

的羟基端基进行了酸端基化。

19. 如权利要求 18 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基团戊二酸酐进行了部分酸端基化。

20. 如权利要求 18 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的羟基端基用戊二酸酐进行了全部酸端基化。

21. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 其中所合成的所述聚酯的平均聚合度在 10~300 之间。

22. 如权利要求 21 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的聚酯的羧基端基与羟基端基之比大于 1。

23. 如权利要求 13 所述的方法, 其特征在于, 合成所述的聚酯/多肽离子性分子轭合物包含: a) 将聚酯溶于四氢呋喃、丙酮、或乙二醇二甲醚中, 然后加入碱; b) 加入多肽或 2~50% (W/W, 多肽/聚酯) 的多肽/聚酯负载水平的肽的盐的水溶液。

24. 如权利要求 23 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的多肽是其 pKa 值大于或等于 3,5 的酸的盐。

25. 如权利要求 23 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的多肽占所述离子性轭合物的总重量的 1~50%。

26. 如权利要求 23 所述的方法, 其特征在于, 所述组合物中的多肽的 85% 与所述聚酯发生离子性轭合。

27. 如权利要求 23 所述的方法, 其特征在于, 其中所述的反应使所述的反应物之间形成离子键。

28. 一种组合物, 其特征在于, 该组合物由权利要求 12 的方法制备而成。

29. 一种合成微粒的方法, 其特征在于, 该方法包含 a) 将权利要求 1 的组合物溶于非质子性的可与水混溶的有机溶剂中; b) 将所述有机溶剂与水混和; 和 c) 从所述水中分离出微粒。

30. 如权利要求 29 所述的方法, 其特征在于, 其中所述有机溶

剂选自下列一组化合物：丙酮，乙腈，四氢呋喃，二甲基甲酰胺，和乙二醇二甲醚。

说明书

可生物降解聚酯和生物活性多肽 的离子性分子轭合物

本发明涉及生物活性多肽的持续释放。

人们为了有控制地在体内释放药物成分，已开发、试验和使用了许多药物传送系统。例如，使用聚(DL-乳酸)、聚乙醇酸、聚(ϵ -己内酯)等聚酯和各种其他共聚物以释放孕酮等生物活性分子。使用所述聚酯等时，采用微胶囊、薄膜、棒条等形式(Pitt CG, Marks, TA, 和 Schindler, A. 1980)。在植入聚合物/治疗剂组合物时，例如皮下或肌肉内植入时，治疗剂在一特定时间内释放。这些具生物相容性、可生物降解的聚合物系统被设计成使被其诱捕的治疗剂可从聚合物基质渗出。治疗剂释放时，聚合物在体内分解，免除了外科去除植入物的手术。尽管影响聚合物降解的因素尚不完全清楚，但人们相信聚酯的这种降解可以通过酯键对聚合物成分的非酶自动催化水解的易接受性加以调控。

EPO Publication 和 US Patent 中已发表了几篇聚合物基质的设计及其在调控治疗剂在体内的释放速率和程度的作用的文章。

例如，Deluca (EPO Publication 0 467 389 A2/肯塔基大学)描述了疏水性可生物降解聚合物与蛋白质或多肽之间的一种物理相互作用。生成的组合物是治疗剂和疏水性聚合物的混合物，它在植入患者体内后，能维持治疗剂从基质的扩散释放。

Hutchinson (US Patent 4,767,628/ICI)通过在聚合物装置内的均匀分散，控制治疗剂的释放。据其所述，这种制剂能通过两相交叠而有控制地连续释放药物：第一，药物从制剂表面的扩散依存

性渗出；第二，药物通过因聚合物降解所致的水性通道进行释放。

一般而言，本发明的特征在于，一种持续释放药物的制剂，它由含一至多个自由羧基的聚酯组成，所述羧基与由至少一个有效的、离子源的胺构成的生物活性多肽进行离子共轭。其中，组合物中的多肽的至少 50% (重量) 与聚酯离子进行离子轭合。

在较佳的实施例中，对聚酯进行修饰，以使羧基对羟基端基的比例从 1 以上增大到接近无穷大，即，所有的羟基都可被羧基取代。来源于下列化合物的聚酯是较合适的聚酯的实例：L-乳酸，D-乳酸，DL-乳酸， ϵ -己内酯，1,4-二噁烷-2-酮， ϵ -己酸，取代和非取代的碳酸三亚甲酯，1,5-二氧杂环庚-2-酮，1,4-二氧杂环庚-2-酮，乙交酯，乙醇酸，L-丙交酯，D-丙交酯，DL-丙交酯，消旋-丙交酯，草酸亚烃酯，草酸环亚烃酯，琥珀酸亚烃酯，(β -羟基丁酸酯)，和任一上述化合物的光学活性异构体、消旋体或共聚物。与传统的聚酯有关的其他杂链聚合物也可使用（例如，聚原酸酯，聚原碳酸酯，聚缩醛）。

聚酯最好通过与苹果酸或柠檬酸反应而被制成多羧基化的聚酯。

在较佳的实施例中，聚酯用戊二（酸）酐部分地加以酸端基化。在另一较佳的实例中，聚酯用戊二（酸）酐全部地加以酸端基化。聚酯的平均聚合度最好在 10~300 间，20~50 间更佳。

本发明的离子性分子轭合物最好由多羧酸端基化的聚酯与含至少一个有效离子源的胺基团的一碱价和多碱价的生物活性多肽轭合而制成。或者，任何聚酯，只要用合适的碱（例如 NaOH）预处理过，都可用以形成本发明的离子性分子轭合物。而且，任何对酸稳定的多肽都可使用，例如，生长激素释放肽 (GHRP)，促黄体激素释放激素 (LHRH)、生长激素释放抑制因子，bombesin（一种促细胞分裂剂），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(激)素(PTH),脑啡肽, endothlin,降钙素基因释放肽(CGRP), neuromedins (神经激肽),甲状旁腺(激)素相关肽(PTHrP),高血糖素,神经降压素,促皮质素(ACTH),肽YY(PYY),高血糖素释放肽(GLP),肠血管活性肽(VIP),垂体腺苷酸环化酶激活肽(PACAP),蠕虫素,P物质,神经肽Y(NPY),TSH,和同类物以及它们的片断。这样的离子性分子轭合物可以预定速率在体内释放其生物活性成分,预定速率由化学结构,分子量和这些轭合物的两个成分的pKa决定。药物释放的一种机制要求不溶性轭合物状态转变为水溶性成分,部分地,系通过疏水性聚酯的水解。这样,活性多肽的释放独立地随下列因素而增加:a)活性多肽和聚酯间的pKa差异减小;b)表现在羧基的亲核性上的聚酯链的化学反应性;c)聚酯密度的减小,因为它与玻璃(态)化温度和最小可结晶性有关;和d)基质亲水性的增加。

在较佳实施例中,多肽占离子性分子轭合物的总重量的1~50%,而组合物中的多肽的85%以上,更好的为95%,尤其好的为99%与聚酯离子轭合;离子性分子轭合物中的聚酯成分的氯仿中的粘度约为0.05—0.7dl/gm;且聚酯的平均分子量约为1200—40,000。

本发明的聚合离子性分子轭合物不必运用需要多相乳状液或非水性二相系统的加工操作而可容易地制成可注射微球或微粒、可植入的薄膜或棒条。微粒最好通过a)溶解组合物于非质子性、水可溶的有机溶剂中;b)在水中混入有机溶剂;和c)从水中分离出微粒而制得。在较佳的实施例中,有机溶剂选自下列的组:丙酮,乙腈,四氢呋喃,二甲基甲酰胺,和乙二醇二甲醚。

在较佳实施例中,聚酯/多肽离子性分子轭合物可以在至少20天,最佳可高达70天但不少于7天的期间内,于体内释放有效治疗

剂量的生物活性多肽，在另一些较佳实施例中，治疗用离子性分子轭合物的释放基本上是单相的。

本发明的持续释放组合物最好通过下法制成：a)提供含游离羧基的聚酯和含至少一个有效的离子源的胺的多肽，b)使聚酯与多肽产生离子性轭合以形成离子性分子轭合物，其中，组合物中的多肽的至少85%(重量)与聚酯发生离子性轭合。聚酯可以是含足够量游离羧基的那种聚酯，或者，如果对开始时所需要的肽负载水平而言，只存在不充分的游离羧基数，则聚酯可以a)通过酯化或官能交换，使之与例如苹果酸或柠檬酸反应，或b)用例如戊二(酸)酐使之酸端基化，或3)聚酯可用(例如NaOH)加以处理，以露出酸基团。最后，聚酯/多肽离子性分子轭合物可被转变成可体内释放多肽的可植入的薄膜或棒条，或可注射的微球或微粒。

聚酯最好在多羧基羧基酸(例如苹果酸或柠檬酸)的存在下，通过一个或多个羧基酸(例如乙醇酸和乳酸的催化或自动催化的直接缩合加以合成。由此形成的聚酯具有酸端基化的羧基端基，该端基最好部分地或全部地被酸端基化。

聚酯也可以在链引发剂(例如羟基聚羧酸)的存在下，通过内酯的催化开环聚合反应，或通过 ϵ -己内酯、1,4-二噁烷-2-酮、碳酸三亚甲酯、1,5-二氧杂环庚-2-酮或1,4-二氧杂环庚-2-酮等环状单体的聚合反应加以合成。

另一种合成方法包括将羧基酸与环状二聚体反应，接着，在羧酸的存在下，进行开链系统的缩合。

还有另一种合成方法包括将有机聚羧酸与预先形成的聚酯进行反应。

在上述的较佳实施例中，酸端基化的聚酯的羧基/羧基端基的比例大于1，接近于无穷大(即，消除了所有羧基)，所具平均聚合度在10-300之间，且在特别理想的实施例中，平均聚合度为20-50。

另外，也可以通过用（例如 NaOH）处理，使聚酯具有可与活性多肽形成离子性分子轭合物的能力。

聚酯/多肽离子性分子轭合物最好通过聚酯（例如自由态的）和多肽（例如自由态的）在合适的液体介质中直接相互作用而合成。在其他较佳实施例中，适合于轭合物形成的溶剂是非质子性溶剂（例如丙酮、四氢呋喃、或乙二醇二甲醚）和适合于多肽的溶剂（例如水）的混合液，其比例以使两个系统混溶为准。多肽最好为 pKa 值大于或等于 3,5 的一元酸的盐。而且，多肽最好含有至少一个有效的离子源的胺基团。

在较佳实施例中，多肽占聚酯/多肽离子性分子轭合物的 1—50%（重量），较佳的为 10—20%（重量）。在较佳实施例中，可获得的聚酯的羧基部分地被碱金属离子或有机碱所中和。在另一些较佳实施例中，碱处理造成聚酯的链解离和低分子量结合点的形成。

此处使用的“多肽”一词，是指蛋白质、肽、寡肽或合成寡肽。

此处使用的“多羧基的”一词，是指含一个以上羧基的化合物，例如苹果酸和柠檬酸。

此处所用的“平均聚合度”一词，是指重复的单体序列的数量。

此处所用的“有效离子源的胺”一词，是指含有至少一个在优势条件下，具有形成离子能力的胺的多肽。

此处所用的“酸端基化的”一词，是指含酸末端的化合物。

此处所用的“部分酸端基化的”一词，是指其羟基端基的 1—99% 酸端基化了的化合物。

此处所用的“全部酸端基化的”一词，是指其羟基端基的 99.9% 以上酸端基化了的化合物。

此处所用的“羧基酸”一词，是指含羟基和羧基的任何化合物。

此处所用的“单羧基羧基酸”一词，是指含一个羧基和一个或多个羟基的有机酸。

此处所用的“多羧基羧基酸”一词，是指含一个以上羧基的羧基酸。

此处所用的“有机共沸剂”一词，是指与水共馏的有机液体。

此处所用的“生物活性的”一词，是指引起或影响生物学结果的分子。

此处所用的“无环化”一词，是指由开环产生的化学反应。

此处所用的“缩聚（作用）”一词，是指由两个或多个分子缩合而形成聚酯。

本发明提供了一种新的药物组合物，该组合物将生物相容性的、可生物降解的聚酯与寡肽、多肽、肽和/或蛋白质进行结合，形成均一的离子性物种。通过将不同分子量的聚酯与治疗剂进行化学结合，可更准确地使组合物的化学特性适合在体内有控制地单相释放生物活性多肽分子的要求。而且，可容易地使本发明的组合物最优化，以使其具有的官能性能能负载更多量的治疗用活性多肽。

对本发明的其他特性和优点，通过下面的较佳实施例的详细描述和权利要求进行说明。

图 1 表示多羧酸端基化了的丙交酯/乙交酯（苹果酸型）共聚物。

图 2 表示描述丙交酯/乙交酯（苹果酸型）共聚物与（BIM-23014）相互作用的离子性分子轭合物。

图 3 为描述于 37°C 下、在 28 日间，从离子性分子轭合物释放出的肽的百分比的图表。

<合成>

通过选择合适的结构单体、共聚〔用〕单体或共聚物形成具有预定的组成和分子量的链，使可生物降解或可吸收的聚酯具有所希望的化学活性；以提供有控制的链水解性并显示出与在生理 pH 时，拥有净负电荷的寡肽、多肽或蛋白质的最大的结合能力（参见图 2

等)。

一种三步(法)合成设计被用于制备本发明的组合物。该合成设计不超出从事本领域工作、且掌握常规技术的人的能力范围,它包括1)多羧酸端基化了的聚酯的合成;2)通过多羧酸端基化了的聚酯(或碱处理过的聚酯)和生物活性多肽的相互作用,合成聚酯/多肽的离子性轭合物;和3)离子性轭合物转化成能在体内释放治疗剂至少7天的植入物、棒条、微球或微粒。

1)多羧酸端基化了的聚酯的合成

通过例如2-羧基酸与多羧基有机酸的直接缩合、无环化产物的分段生长聚合、内酯或内酯混合物的开环聚合、或多羧基有机酸与预先形成的高分子量聚酯的官能互换(参见图1)等方法,合成本发明的多羧酸端基化了的聚酯链。下面说明使用上述方法的多羧酸端基化了的聚酯的合成。

光学活性或非活性的2-羧基酸和预定量的多羧基有机酸在无机或有机金属催化剂的存在或不存在下的直接缩合,例如,乙醇酸与DL-乳酸、DL-苹果酸的缩合,一般通过在少量多羧基羧基酸的存在下,在有干燥氮气的连续流入和能使物料搅拌的玻璃反应器中,加热单羧基羧基酸或两个或多个单羧基羧基酸来加以完成(称为IA型聚酯,参见表1)。一般缩聚反应在150—170℃下反应4—72小时。反应液的搅拌可以用磁性搅拌子或向聚酯物料吹入氮气气泡来进行聚合反应进行至达到所希望的平均分子量(由溶液粘度确定)和/或酸值(由端基滴定确定)。用端基滴定法进行的聚酯分析的方法如下:准确称量聚酯试样(300—500mg),溶于少量(10—30ml)的丙酮中。溶解后,用苯甲醇(Mallinckrodt,分析纯)稀释溶液至100ml,然后,用氢氧化钾的苯甲醇溶液进行滴定至弱粉红色终点(酚酞)(用HCl标准标定)。将用于试样的碱溶液体积(ΔV_s)与用于溶剂空白的碱溶液的体积(ΔV_o)进行比较,以确定聚酯的酸值。

$$\text{酸值} = \frac{\text{试样的重量(mg)}}{\{\Delta V_s(\text{ml}) - \Delta V_o(\text{ml})\} \times \text{碱当量}}$$

聚合结束后，分离并从合适的有机溶液中，用水或稀氢氧化钠水溶液提取聚酯，以去除水溶性或可溶性低分子量链。

用 GPC 法进行的聚酯分析的方法如下：用 Waters 6000 型溶剂输送泵和 Dynamax (Rainin) UV-D 型检测仪进行 GPC，确定聚酯的平均分子量。操作在四氢呋喃 (Burdick & Jackson UV 级) 中用 Jordin Gel DVB 1000 Å，50cm × 10mm 柱 (Jordi Associates) 于 25°C，1.2ml/min 的流速下进行。在 220nm 和 1.0AUFS 检测峰。分离柱用 MW = 4000，9200 和 25,000 的窄带聚苯乙烯参比标准品 (Polysciences In C.) 作校准。

直接缩合方法的一种改良法要求使用有机共沸剂和作为缩合催化剂的阳离子交换树脂 (称为 IB 型聚酯，参见表 I)。该方法需要过滤和蒸馏步骤，以分别除去催化剂和共沸剂。用这些方法制备的聚酯的代表性例子和相应的分析数据示于表 I。

表 I: 用直接缩合法制备的聚酯

IA 型聚酯						
聚合物 编号		进料量	聚合条件	酸值 #	固有 粘度	Tg,* (°C)
1	L-乳酸(88%)	35.7gm(0.349M)	100°C/0.7hr	563	0.24	11
	乙醇酸	4.65gm(0.612M)	165 °C/17.5hrs			
	柠檬酸	1.75gm/(0.0091M)				
2	L-乳酸(88%)	25.6gm(0.25M)	165°C/22hrs	820	0.14	27
	乙醇酸	19.2gm(0.25M)				
	苹果酸	1.5gm(0.011M)				
IB 型聚酯						
3	L-乳酸(88%)	25.6gm(0.25M)	132°C/53 hrs	842	0.11	15
	乙醇酸	19.2gm(0.25M)				
	柠檬酸	2.13gm(0.011M)	用迪安-斯达克			
	Amberlyst(商品名)		塌分水器倾析。			
	催化剂珠 #15	0.5gm	在丙酮中过滤、			
	甲苯	150ml	干燥。水洗,真 空干燥。			
4	L-乳酸(88%)	25.6gm(0.25M)	132°C/68 hrs	1421	0.20	28
	乙醇酸	19.2gm(0.25M)				
	苹果酸	1.5gm(0.011M)	用迪安-斯达克			
	Amberlyst(商品名)		塌分水器。倾析、			
	甲苯	100ml	干燥、水洗、真空 干燥。			

* 用差示扫描量热计(TA 2100 DSC)测定(试样:2-10mg,加热速率:10°C/min,氮气中)

无环化产物的分段生长聚合，除了它使用单羧基羧酸、仲羧基酸的环化二聚物、羟基聚羧酸的混合物外，与上述的缩合过程基本一致，其中，让羧基酸与环化二聚物反应，并在预定量的聚羧酸的存在下，和在合适的缩合催化剂，例如乙醇酸、L-丙交酯和 DL-苹果酸的存在或不存在下，与产生的开链系统继续缩合。由此方法制备的聚酯的例子和相应的分析数据列于表 II。当环化二聚物用水预处理时，该系统可看作单一的分段生长聚合。

表 II 无环化产物的分段生长聚合

I 型聚酯						
聚合物 编号		进料量	聚合条件	酸值 #	固有 粘度	Tg,* (°C)
1	L-丙交酯单体	10.0gm(0.07M)	160°C/29 hrs	1200	0.21	20
	乙醇酸	10.7gm(0.14M)	苹果酸			
		0.79gm(0.0061M)				
2	L-丙交酯单体	20.0gm(0.139M)	25-155°C/1.5h	1800	0.13	27
	乙醇酸	7.1gm(0.093M)	155°C/70 hr			
	苹果酸	1.01gm(0.0075M)	溶于 DCM, 水洗,真空干燥			

* 用差示扫描量热计 (TA 2100 DSC) 测定

(试样: 2-10mg, 加热效率: 10°C/min, 氮气中)

在作为链引发剂的预定浓度的羟基-聚羧酸和催化量的有机金属催化剂 (例如, 在辛酸亚锡的存在下的 L-丙交酯、乙交酯和 DL-苹果酸的混合物) 的存在下, 内酯或内酯混合液的开环聚合使用干燥的环化单体或环化单体的混合物、羟基-聚羧酸和微量的辛酸亚锡 (使用 0.33M 的甲苯溶液), 所述的环化单体等在干燥的无氧空气

中，送入装有磁性或机械搅拌装置的玻璃反应器中。聚合反应在适当的加热过程后，于氮气中进行至达到所希望的分子量（由溶液粘度测定）。聚合反应结束后，降低温度，将未反应的单体在减压下馏去。然后，冷却聚酯块，水溶性的低分子量部分通过低温提取，从合适的有机溶剂中除去。再干燥有机溶液，除去溶剂。分子量由固有粘度和由端基滴定测出的酸值确定，由此方法制备的聚酯的例子和相应的分析数据，列于表Ⅲ。

表Ⅲ 由开环聚合制备的聚酯

Ⅲ型聚酯		进料量	聚合条件	酸值	固有 粘度	T _g , (°C)*
聚合物						
1	乙交酯	3.22gm (0.028M)	120°C/0.5hr	2.150	0.79	38
	L-丙交酯	10.7gm (0.14M)	150°C/6 hrs			
	苹果酸	0.79gm (0.0061M)	120°C/11hrs			
2	乙交酯	2.84gm (0.0245M)	120°C/0.5 hr	1,206	0.08	26
	D,L-丙交酯	20.0gm (0.139M)	180 °C/2.5 hrs			
	苹果酸	0.876gm (0.00541M)	130°C/15 hrs			
3	乙交酯	2.84gm (0.0245M)	155°C/1 hr	937	0.10	27
	D,L-丙交酯	20.0gm (0.139M)	185°C/2.5 hrs			
	柠檬酸	1.256gm (0.00654M)	190 °C/2.5 hrs 160 °C/13 hrs			
4	乙交酯	8.06gm (0.0694M)	180 °C/1 hr	970	0.26	23
	D,L-丙交酯	10.0gm (0.0694M)	185°C/2 hrs			
	苹果酸	0.744gm (0.0055M)	195 °C/7 hrs 120 °C/9hrs			
5	乙交酯	8.06gm (0.0694M)	150 °C/0.5 hr	10.138	0.39	30
	D,L-丙交酯	10.0gm (0.0694M)	185°C/4 hrs			

1,6-乙二醇 0.656gm (0.00555M) 150°C/1.5hrs
120 °C/3 hrs

* 用差示扫描量热计 (TA2100, DSC)测定

(试样: 2-10mg, 加热速率: 10°C/min, 氮气中)

** 在六氟异丙醇中

多羧基或羟基-有机多元酸与其整体的 COOH/OH 的比例实际上为零的预先形成的高分子量的聚酯的官能变换, 要求在微量的有机金属催化剂 (例如辛酸亚锡) 的存在下, 将高分子量的聚酯与预定量的聚羧酸或羟基-聚羧酸加热, 为产生 $\text{COOH/OH} \geq 1$ 的低分子量的聚酯, 所述官能互换最好在有机金属催化剂 (例如, 在辛酸亚锡的存在下, 带 DL-苹果酸的、 $\text{COOH/OH} \leq 1$ 和分子量大于 5,000 的 85/15 丙交酯/乙交酯的熔融反应物) 的存在下进行。在剧烈搅拌下于氮气中, 150 °C 以上温度加热反应物直至官能互换完成 (由残存的未反应的聚羧酸消耗来测定)。实际上, 这是通过监测生成的低分子量聚酯和存在的未反应聚羧酸而确定的 (用毛细管粘度计在 28°C 下测定溶液粘度) 这是通过用水提取聚酯试样, 然后用高效液相色谱 (HPLC) 分析提取物来进行, 残存的单体、二聚物和多聚羧酸的水平通过使用 Waters 6000 型溶剂输送泵和 Dynamax (Rainin) UV-D 型检测仪 (205nm, 1.0 AUFS), 用 HPLC 测定。溶剂使用 0.025N Na_2PO_4 缓冲液 (pH=3.5), isocratic 流速为 1.0ml/min, 分离柱是 Nucleosil C18 (5 μ m, 25cm \times 4.6mm)。

分离出所希望的聚酯, 按与上述的开环聚合时同样的方法进行纯化。用此方法制备的聚酯的例子和相应的分析数据示于表 IV。

表 IV：由官能互换制备的聚酞

N型聚酞						
聚合物		进料量	聚合条件	酸值	固有粘度 7inh	Tg, °C*
1	Boehringer A001 柠檬酸**	8gm(50/50dl-丙交酯/乙交酯) 0.8gm(0.00417M)	150°C/5hrs	670	0.26	25

* 用差示扫描量热计 (TA 2100 DSC)测定
(试样:2-10mg,加热速率:10°C/min,氮气中)

** 分析量的辛酸亚锡(0.33M 溶液 2 滴,约 0.03nmole)

适合于本发明的聚酯的合成的其他单体有：L-乳酸，DL-乳酸， ϵ -己内酯，1,4-二噁烷-2-酮， ϵ -己酸，碳酸三亚甲酯，1,4-二氧杂环庚-2-酮，1,4-二氧杂环庚-2-酮，乙交酯和消旋-丙交酯。有用的多羧基链引发剂和/或链改性剂的例子包括：苹果酸和柠檬酸。

2)通过多羧酸端基化了的聚酯和生物活性多肽的离子相互作用进行的聚酯/多肽离子轭合物的合成。

上述的多羧酸端基化的可生物降解的聚酯被用于与带可获得的有效离子源的胺基的单羧基或多羧基的寡肽、多肽或蛋白质形成离子性分子轭合物(参见图2)。而且,要使任何聚酯具有与多肽形成离子性分子轭合物的能力,除非聚酯被碱(例如0.1N NaOH)处理。这些处理使聚酯的酸基团露出,以与阳离子性多肽产生多部位离子相互作用。

这样,在有或没有用无机碱对聚酯进行预处理、以使聚酯与碱性药物的结合额定量达到最大的情况下,通过在合适溶剂中的成分的直接分子相互作用,形成这些轭合物。如前面指出的那样,这些离子轭合物成分的离子相互作用,随着它们的pKa值的差值而增大。

将聚酯在 2—20%(W/V) 的浓度范围内溶于合适的溶剂中。这些溶剂必须能溶解聚酯, 而且还需能与水部分混溶。用于此目的的合适的溶剂包括四氢呋喃、丙酮和乙二醇二甲醚。在此溶液中, 加入碱(例如氢氧化钠和钾或碳酸钠和钾)的水溶液, 以使聚酯的结合容量达到最大。一般而言, 添加的碱的量相当于由待使用的碱性肽的抗衡阴离子水平所代表的酸的量。

在粗略地混合聚酯-碱混合物后, 加入肽或肽盐的水溶液, 达到 2—50%(W/W, 肽/聚酯) 的肽/聚酯负载水平。将该混合液搅拌一段时间(达 3 小时), 然后除去溶剂, 将生成物在真空下干燥。该生成物也可以按剂量配方需要, 作进一步加工。生成的药用组合物被设计成整个由离子性分子轭合物组成的化学性均一的组合物, 和实际上没有在可生物降解的基质中的活性药物的微观上的或宏观上的分散的区域。制备好的离子性分子轭合物的例子和相应的分析数据示于表 V。

表 V: 离子性分子轭合物-肽结合¹

	使用的聚合物	肽 ² 负载量% 保留值 ³ %		
1	50/50dl 丙交酯/乙交酯	I	10	47
	(商品化的)	I	20	25
	酸值=22.000	II	20	73
	固有粘度 $\eta_{inh}=0.53$	III	20	48.5
2	聚 L-丙交酯	I	10	62
	(商品化的)	II	20	40
	MW (ave)=2,000 酸值=850			
3	聚 L-丙交酯	I	10	54
	(商品化的) MW (ave)=50,000			

				酸值=2100
4	48/48/4 聚 d,1-丙交酯/乙交酯/1,6-环己二醇 (方法Ⅲ)	I	20	43
				酸值=10,138
				固有粘度 $\eta_{inh}=0.39$
5	49/49/2 聚 L-乳酸/乙醇酸	I	10	100
	/苹果酸	I	20	99
	(IB 型)	I	30	95.5
	酸值=1400	I	40	96.0
	固有粘度 $\eta_{inh}=0.20$	I	50	99.8
		Ⅱ	20	99.8
		Ⅲ	20	77.5
6	83.3/14.7/2 聚 L-乳酸/乙醇酸	I	20	96
	/柠檬酸			
	(IA 型)			
	酸值-563			
	固有粘度 $\eta_{inh}=0.24$			
7	49/49/2 聚 d,1-丙交酯/乙交酯/苹果酸	I	20	96
	(Ⅱ 型)	Ⅲ	20	73.9
	酸值=1200			
	固有粘度 $\eta_{inh}=0.21$			
8	48/48/4 聚 d,1-丙交酯/乙交酯/柠檬酸	I	10	90
	(Ⅲ 型)			
	酸值=589			
	固有粘度 $\eta_{inh}=0.22$			

1. 在所有情况中，以丙酮作为溶剂，氢氧化钠作为碱，轭合物如教科书中描述的那样而形成。使用的所有肽皆为其醋酸盐。

2. 肽： I BIM-21003 D-Trp⁶-LHRH(pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly NH₂) pka = 10.1

II BIM-23014 (H₂N-β-D-Nal-Cys-Tyr-Trp-Lys-Val-Cys-Thr NH₂)
pka = 9.8

III BIM-26226 (H₂N-D-F₅ Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-OCH₃)
pka = 8.0

3. 保留值：通过用去离子水冲洗干燥的聚酯/多肽离子轭合物和对溶解于清洗水中的肽用 HPLC 进行定量而测定。

$$\text{保留值}(\%) = \frac{(\text{负载的肽} - \text{溶解的肽}) \text{的重量}}{\text{负载的肽的重量}}$$

3) 将离子轭合物转换成能在体内以单相型释放治疗剂至少 20 日的植入物、棒条、微球或微粒。

本发明的离子轭合物可以转换成 A) 含 1~50%(重量)多肽的无菌的可注射的微球(有或没有 0.1~10% 的固体多羟基醇作为操作助剂);所述的多肽可基本上按照单相型进行释放并在 1~12 周内持续药理活性。b) 在有或没有无药理活性的操作助剂的情况下,通过浇铸、压模或挤压,制成与 A) 中所述相同的、可提供释放外形的无菌的可植入的薄膜;和 c) 通过挤压或压模制成的、与 A) 中所述相同的、可提供释放外形的无菌的可植入的棒条。

体外释放试验:

干燥的研过的离子轭合物试样各 50mg, 置入直径 25mm 的闪烁管中, 再在各个管内加入 5ml 的改进型 PBS 缓冲液(PBS 缓冲

液：2.87gm Na_2HPO_4 ，0.654gm NaH_2PO_4 ，5.9m NaCl ，0.5gm NaN_3 ，Q.S. 1.0 L，用去离子水；pH=7.27)将管子置入实验室用摇动器中，在 37°C 下以 120R.P.M 回荡。定时取出管子，倾去上清液并用新鲜 PBS 溶液重新装满。用 HPLC 在倾出的 PBS 溶液中测定释放出来的肽的量。

从离子性轭合物抽取肽

将 50mg 的离子性分子轭合物与 20ml 的二氯甲烷混和。混合液连续用 50ml、20ml 和 20ml 的 2N 醋酸提取。合并醋酸提取液，用高效液相色谱(HPLC)分析肽含量。HPLC 的肽分析按如下方法进行。HPLC 分析使用 Waters M-4 型溶剂输送泵和 EM Science MACS 700s 检测仪在 220nm 和 1.0AUFS 进行。用 Lichrospher (EM separations)C18, 1000 Å, 5µm, 25cm × 4.6mm 柱进行分离，isocratic 洗脱缓冲液为 30% 乙腈/0.1%TFA。

下列是体外试验的详细数据(表 VI)，它们显示了 49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸\ D-色氨酸⁶[LHRH](实施例 8)、49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸\ 生长激素释放抑制因子-肿瘤抑制类似物(实施例 9)和 73.5 : 24.5 : 2 聚 L-丙交酯/乙醇酸/苹果酸 : D-色氨酸⁶[LHRH](实施例 10)离子性分子轭合物在 28 天期间所释放的肽的量。图 3 为这些数据的图形表达。

表 VI 体外试验数据

试验日数	占有所有释放出来的肽的百分比		
	实施例 8	实施例 9	实施例 10
1	5.5%	12.5%	11%
7	26.9%	21.3%	53%
14	55.2%	47.3%	55%
17	84.4%	72.2%	60%
21	98.6%	82.5%	66%

24	100%	98.2%	75%
28	—	99.6%	—

离子性轭合物中的肽的定量

轭合产物中离子性结合的肽的测定是通过将 10mg 试样溶于丙酮和 0.1M 三氟醋酸水溶液(9:1)的混合液中进行。将溶液在 25℃ 回荡 15—24 小时,然后用 0.5 μm 特氟隆过滤筒过滤。滤液随后用 HPLC 进行肽含量分析。HPLC 的肽分析使用 Millipore(密理博)公司的 717 Wisp 型自动进样器、510 型泵和 486 型紫外检测仪(设定在 220nm)。分离肽的柱子为 25cm×4.6mm 的 Lichrospher C₁₈(EM Separations, 5μm, 100Å),流速为 1.0ml/min,洗脱系统为含 35% 乙腈的 0.14% 高氯酸钠缓冲液。肽的量是通过比较试样的准确的峰面积和注入的肽标准品的峰面积加以确定的。

这里所说的任何带酸的聚酯/多肽离子性轭合物都可以单独或与药学上可接受的媒体一起用于受体。尽管通过皮下、肌下和肠胃外施药,用栓剂或滴鼻剂施药比较方便,但治疗用配制物须根据所处理的条件进行施用。在本发明的配方中的组合物的浓度将随着一些事项(包括施用的剂量和方法)而变化。

可以相信,本行业的熟练工作者不需要进一步努力便能利用前面的说明,最大程度地运用现成的本发明。因此,下面的实施例须解释为仅仅是对本公开的其他部分的描述,而决非是限制。

实施例 1:直接缩合法——由 Amerlyst 15 催化的 50/50 D,L-乳酸/乙醇酸共聚物的合成

将 D,L-乳酸(85% 水混合物, 13.7 克, 0.13 摩尔)与乙醇酸(10 克, 0.13 摩尔)在装备有磁性搅拌器和迪安-斯达克榻分水器及水冷凝管的圆底瓶中混合,另入甲苯(100ml)和 Amerlyst 15 小珠(100mg),在氮气中,将混合液回流 72 小时,从混合液中除去水。

冷却混合液，从固体物中倾去甲苯，将产物溶于二氯甲烷 (250ml) 中。二氯甲烷溶液用活性炭 (Darco, 500mg) 处理，过滤并在旋转蒸发器中真空干燥。进一步将聚酯于 40℃ 下，在高真空 (1mmHg) 中干燥，得到白色粉末。

(氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.3$, 酸值 = 2439, $T_g = 12^\circ\text{C}$)

实施例 2: 直接缩合法——由 Amberlyst 15 催化的 49/49/2 L-乳酸/乙醇酸/柠檬酸共聚物的合成

使用与上述相类似的体系，将 L-乳酸 (88% 水混合物, 25.6 克, 0.25 摩尔) 与乙醇酸 (19.2 克, 0.25 摩尔)、柠檬酸一水合物 (2.33 克, 0.011 摩尔), Amberlyst 15 小珠 (500mg) 和甲苯 (150ml) 在圆底烧瓶中混合。将混合液在搅拌下加热，回流 51 小时，用迪安-斯达克榻分水器除去水。从半固体物中倾去甲苯。将聚酯溶于丙酮 (330ml)，过滤并在旋转蒸发器中蒸干。然后，将固体的聚酯再溶于二氯甲烷中，水洗二次 ($2 \times 150\text{ml}$)，以除去可溶性低聚物。在旋转蒸发器中浓缩有机溶液，在真空中彻底干燥，得到白色固体 (参见表 I, IB 型聚酯，聚合物 4)。

(在氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.11$, 酸值 = 842, $T_g = 15^\circ\text{C}$)

实施例 3: 阶段生长聚合法——由苹果酸催化的 73.5/24.5/2 L-丙交酯/乙醇酸/苹果酸共聚物的合成

使用有空气碰撞取样器的 150ml 圆筒式安瓿，将 L-丙交酯 (20 克, 0.139 摩尔) 和乙醇酸 (7.1 克, 0.093 摩尔)、(d,l)-苹果酸 (1.0 克, 0.0075 摩尔) 混合于其中。混合液通过从碰撞取样器的进料口吹入氮气 (100ml/min) 进行搅拌，并在 100 分钟内将温度从 25℃ 加热至 155℃。反应温度于 70 小时内保持在 155℃，聚合生成的水被反应器的出料线路处的冷阱除去。70 小时后，将反应液冷却至 100℃，并注入冷却的不锈钢受器中以使反应液硬化。然后将固体的聚酯重新溶于二氯甲烷中，水洗二次 ($2 \times 150\text{ml}$) 以除去可溶性低聚

物。将有机溶液在旋转蒸发仪中浓缩，并将产物在真空下彻底干燥，得到白色固体（见表Ⅱ，Ⅱ型聚酯，聚合物2）。

（在氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.13$ ，酸值 = 1800， $T_g = 27^\circ\text{C}$ ）

实施例4：开环聚合法——由苹果酸引发的75/25 L-丙交酯/乙交酯共聚物的合成。

将 L-丙交酯（12.0 克，0.0833 摩尔）、乙交酯（3.21 克，0.0277 摩尔）、苹果酸（0.3042 克，0.00227 摩尔）和辛酸亚锡催化剂（0.33M 甲苯溶液，67 μ ，0.022 毫摩尔）在干燥氮气下加入有磁力搅拌器的玻璃安瓿中。在将安瓿封口前，用 N_2 冲洗该系统，并抽真空数次。然后，在 140°C 将反应物溶化，溶化物在 180°C 、 190°C 、 180° 、和 150°C 分别加热 1、4.5、12 和 2 小时。冷却至室温后，将聚酯在低于 1mmHg 的真空下，重新加热至 110°C 约 1 小时，以除去单体，然后在室温中冷却，置入液氮中使其聚冷，分离和真空干燥。

（氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.20$ ，酸价 = 2560， $T_g = 39^\circ\text{C}$ ）

实施例5：开环聚合法——由柠檬酸引发的50/50 D,L-丙交酯/乙交酯共聚物的合成。

将 D,L-丙交酯（10.0g，0.0694 摩尔）和乙交酯（8.06 克，0.064 摩尔）、柠檬酸（1.07 克，0.0055 摩尔）及辛酸亚锡催化剂（0.33M 甲苯溶液，84 μL ，0.0278 毫摩尔）在干燥氮气下置入有磁力搅拌器的玻璃安瓿中混和。溶化反应物，并分别在 180°C 、 185°C 、 195°C 和 120°C 加热 1、2、7 和 9 小时。将聚酯冷却至室温，置入液氮中使其聚冷，然后分离和干燥。

（氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.26$ ，酸值 = 970， $T_g = 23^\circ\text{C}$ ）

实施例6：开环聚合法——由1,6-己二醇引发的50/50 D,L-丙交酯/乙交酯共聚物的合成

使用与上述相似的系统，将 D,L-丙交酯（10.0g，0.0694 摩尔）、乙交酯（8.06 克，0.0694 摩尔）、1,6-己二醇（0.656 克，

0.00555 摩尔)和辛酸亚锡 (0.33M 甲苯溶液, 84 μ L, 0.0278 毫摩尔)在干燥氮气中加入至玻璃安瓿中, 随后, 在真空中将安瓿封口。分别在 150 °C、185 °C、150 °C 和 120 °C 将其加热 0.5、4、1.5 和 3 小时。回收生成的聚酯并加以干燥 (参见表 III, III 型聚酯, 聚合物 5)。

(在氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.39$, 酸价 = 10138, $T_g = 30$ °C)

实施例 7: 官能互换法——带羧基的 50/50D,L-丙交酯/乙交酯共聚物的合成。

将 50/50 D,L-丙交酯/乙交酯 (Boehringer A001, 8 克)、柠檬酸 (0.8 克, 4.16 毫摩尔)和辛酸亚锡 2 滴在干燥氮气中加入至玻璃安瓿中, 然后封口。在 150 °C 加热混合物 4 小时, 然后冷却至室温, 置入液氮中使其聚冷, 分离并干燥 (参见表 IV, IV 型聚酯, 聚合物 1)。

(氯仿中的 $\eta_{inh} = 0.26$, 酸价 = 670, $T_g = 23$ °C)

实施例 8: 49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸 (参见表 I, 聚合物 4)和 D-色氨酸⁶[LHRH]的离子性分子轭合物的合成。

将 500mg 的 49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸 (用直接缩合法合成制得; 分子量 = 9500, 酸价 = 1420)溶于 10ml 的丙酮 (Mallinckrodt 分析试剂)中。加入 1.14ml 0.1N 氢氧化钠溶液, 将混合物在室温下搅拌 15 分钟。加入含 100mg 的 D-色氨酸⁶[LHRH](BIM-21003 肽 I; 碱含量 87%, 醋酸盐含量 7%)的 1.0ml 水溶液, 室温下搅拌混合物 1 小时。先在 40°C 以下用旋转蒸发器, 然后置于 1mmHg 真空和室温下的干燥器中 1 小时以除去溶剂。研磨干燥的固体, 在 100ml 去离子水中搅拌, 并用过滤法进行分离。滤出的水溶液用 HPLC 进行检测, 发现含 <1mg 的可溶性肽。真空下干燥固体物数日, 得到 540mg 的白色粉末。粉末用于体外试验 (参见表 VI, 实施例 8)。

实施例 9: 49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸 (参见表 I, 聚合

物 4) 和生长激素释放抑制因子/肿瘤抑制类似物的离子性分子轭合物的合成。

将 100mg 的 49 : 49 : 2 L-乳酸/乙醇酸/苹果酸 (用直接缩合法合成制得; 分子量 = 9500, 酸价 = 1420) 溶于 2ml 的丙酮 (Mallinckrodt 分析试剂) 中。加入 0.32ml 的 0.1N 氢氧化钠溶液, 将混合物于室温下搅拌 15 分钟。加入含 20mg 的生长激素释放抑制因子/肿瘤抑制类似物 (BIM-23014 肽 II; 碱含量 85%, 醋酸盐含量 9.8%) 的 1.2ml 水溶液, 室温下搅拌混合物 1 小时。先在 40°C 以下用旋转蒸发仪, 然后置于 1mmHg 真空和室温下的干燥器中 1 小时以除去溶剂。研磨干燥的固体, 并在 20ml 去离子水中搅拌, 用过滤法进行分离。滤出的水溶液用 HPLC 进行检测, 发现含 < 0.05mg 的可溶性肽。在真空中干燥固体物数日, 得到 106mg 的白色粉末。研磨粉末, 并将其用于体外释放试验 (参见表 VI, 实施例 9)。

实施例 10: 73.5 : 24.5 : 2 聚 L-丙交酯/乙醇酸/苹果酸 (参见表 II, 聚合物 2) 和 D-色氨酸⁶[LHRH] 的离子性分子轭合物的合成

将 800mg 的 73.5 : 24.5 : 2 聚 L-丙交酯/乙醇酸/苹果酸 (用无环化产物的阶段生长法合成制得; 酸价 = 1800) 溶于 16ml 丙酮中。加入 2.8ml 的 0.1N 氢氧化钠溶液, 室温下搅拌溶液 20 分钟。加入 200mg 的 D-色氨酸⁶[LHRH] (BIM-21003; 碱含量 87%, 醋酸盐含量 7%) 的 2ml 水溶液, 搅拌混合液 90 分钟。除去溶剂, 将生成固体在去离子水中研磨, 与实施例 8 一样, 表明所含的可溶性肽盐小于 1%。将分离出的固体在真空中干燥 4 日, 得到 839mg 的白色粉末。研磨粉末, 将其用于体外释放试验 (参见表 VI, 实施例 10)。

实施例 11: L-丙交酯/乙交酯/d,L-苹果酸聚酯 (65 : 33 : 2) 的肽-聚合物离子性轭合物微粒 1.50 的形成。

将实施例 4 中同样由开环聚合法合成而得的轭合物 [分子量 =

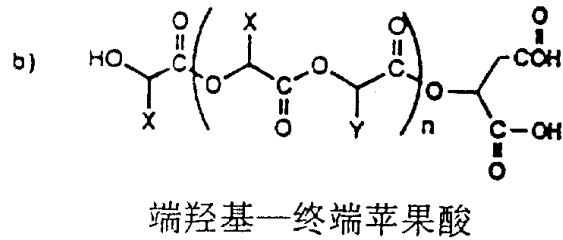
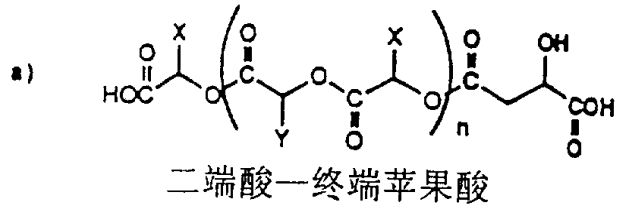
4700, 在 Jordi 凝胶 50×1cm 混合线性底柱 (mixed linear bed column) 上, 用 THF 洗脱液, 和 Wyatt Mini Daun 光散射检测仪 (dn/dc=0.05) 进行 GPC, 测得多分散度=1.3, 由滴定测得酸价=1475, Tg=42℃] 溶于 40ml 丙酮中。在聚合物溶液中, 在搅拌下缓缓加入含 0.5 克 BIM-2304 (肽含量 83.7%, 醋酸盐含量 11.5%) 的 Milli-Q 水溶液 20ml 以中和酸基团。在肽的添加过程中, 分批地再加入丙酮 40ml 以防产生沉淀。搅拌清澄无色溶液 1 小时, 然后真空蒸干。将生成的白色固体重新溶解于 20ml 丙酮和 2ml Milli-Q 水的混合液中, 形成清澄溶液。该溶液在 4℃ 下用 0.2 μ 的特氟隆过滤器注入盛有 4℃ 的被快速搅动的 500ml Milli-Q 水的贮液器中。聚合物/肽配位物相在与水接触时立即分离成细粒。浆液在 4℃ 下混合 30 分钟后, 减压下除去残存的丙酮, 用离心分离法分离出固体, 将其重新悬浮于 100ml Milli-Q 水中, 再离心分离。冷冻干燥分离出的固体, 得到 1530mg 能流动自如的白色粉末。粒子的大小范围=2—100 μm。离子性轭合物的 Tg 是 53℃。HPLC 分析显示在所有上清水溶液中的总残存 (未结合的) 肽为 63mg。用氮元素分析法测得总的初始肽的含量为 19.9% (重量)。使用丙酮/0.1MTFA 提取技术, 测得可从轭合物提取的肽的百分比为 16.9% (重量)。这样, 生成的轭合物保持约 84.8% 的离子 (可提取的) 特性。

根据上述说明, 本行业的技术熟练者可容易地弄清本发明的基本特征。且在不离开本发明的实质和范围的情况下, 可对其作各种变化和改良以适应各种用途和条件。这样, 本发明的其他实施例也在本发明的权利要求的范围内。

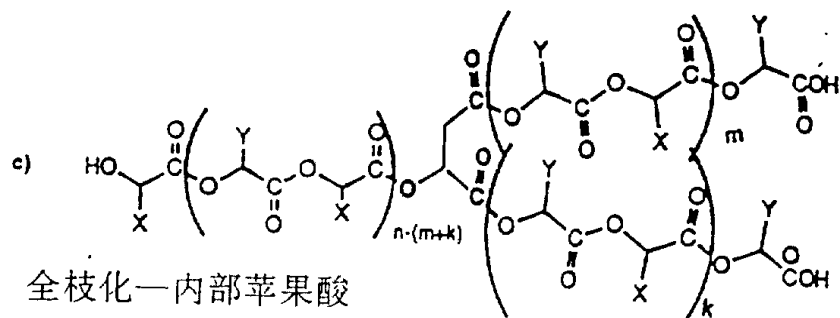
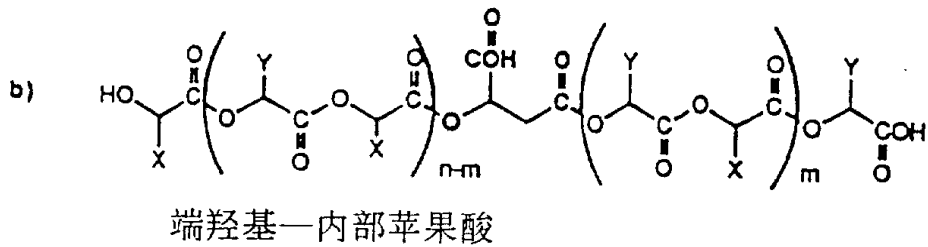
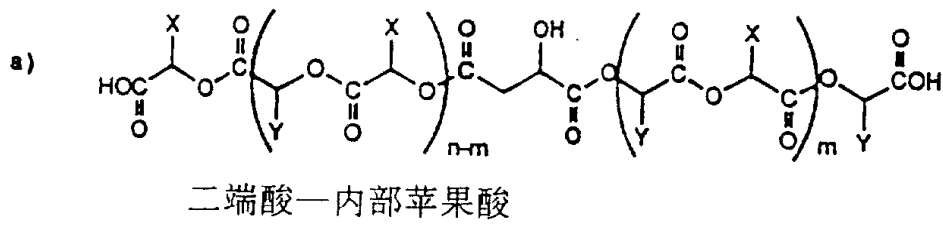
说 明 书 附 图

具有多羧酸端基化的链的乳酸酯/乙醇酸酯型聚合物的形状

I. 线性链



II. 枝链



Y=乳酸时为 CH₃, 乙醇酸时为 H; X=乙醇酸时为 H, 乳酸时为 CH₃
 X+Y 的分布是分子式依存性和聚合依存性的

图 1

离子性轭合物的实施例

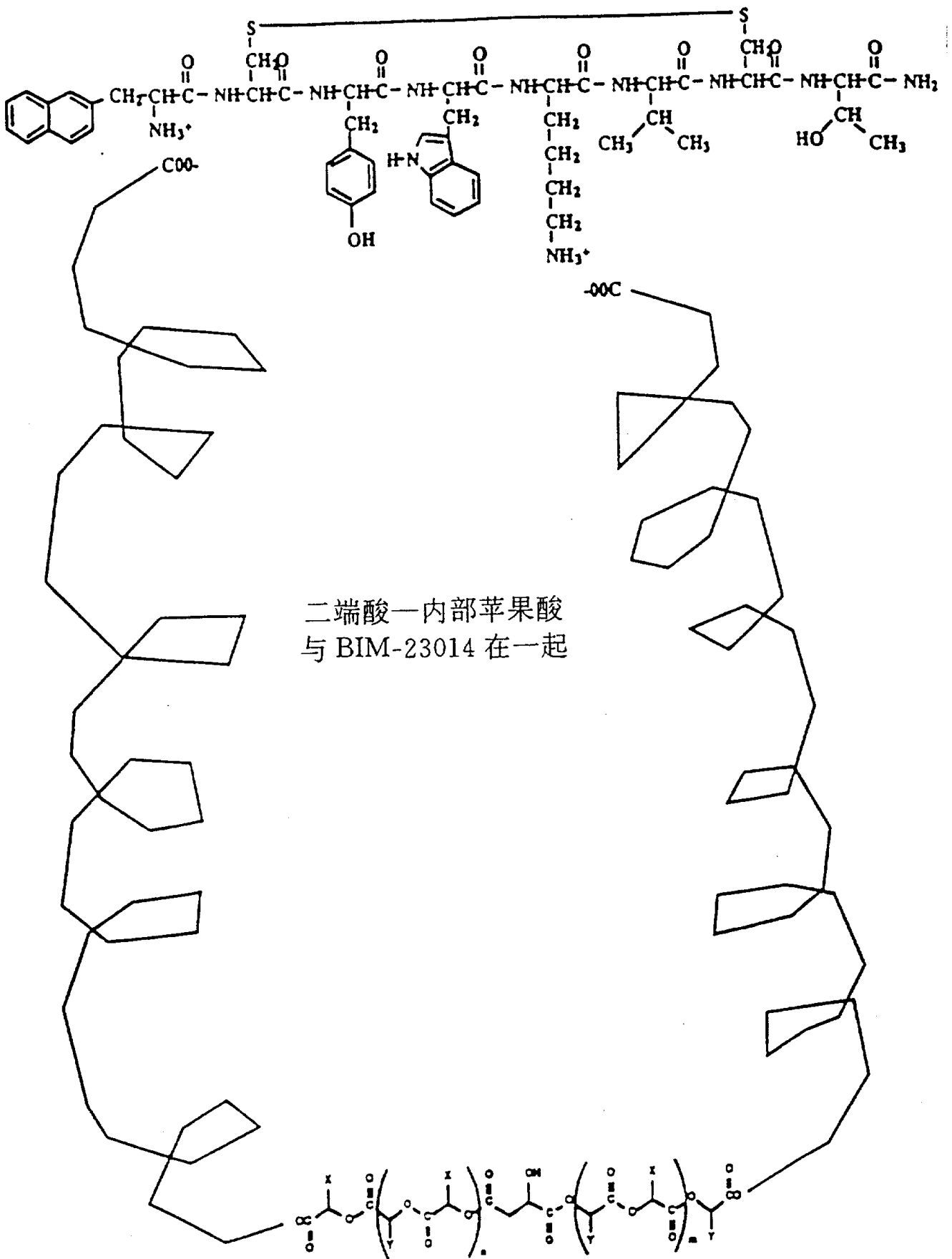
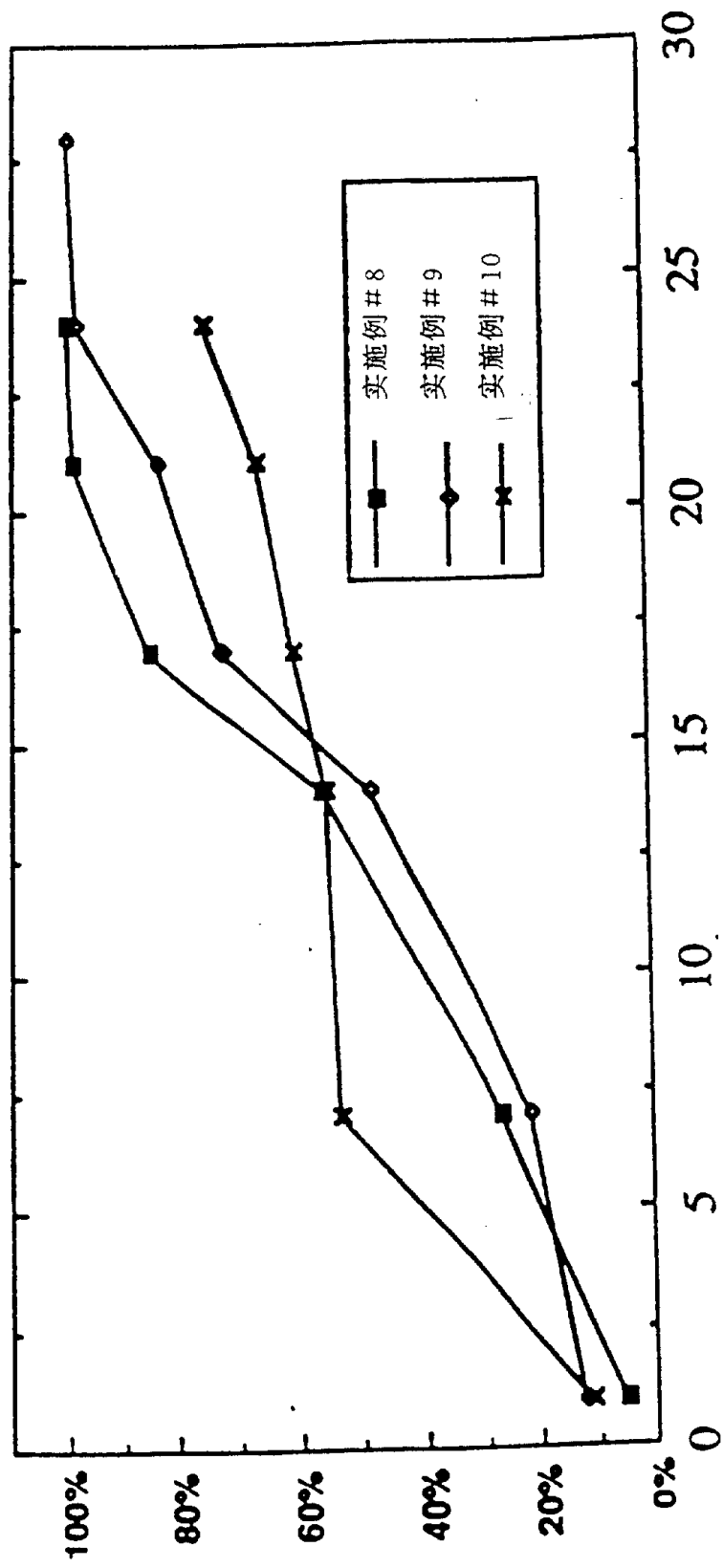


图 2

体外肽释放



日

图 3

释放至 PBS 缓冲液中的肽的百分比,均为 37°C