



где X - ацильная группа,  
каждый из R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> и R<sub>4</sub> - ароматическая циклическая  
группа,  
R<sub>3</sub> - остаток D-аминокислоты или группа формулы



где R - алкильная группа с числом атомов углерода от 2 до 8, и (B) полимолочной кислоты, и в основном нерастворимый в воде физиологически активный пептид или его соль растворяют в растворителе, в основном несмешивающемся с водой, а затем удаляют указанный растворитель

25 Способ по п. 24, в соответствии с которым после растворения биологически разлагающегося полимера и в основном нерастворимого в воде физиологически активного пептида или его соли в растворителе, в основном несмешивающемся с водой, дополнительно вводят этот раствор в водную среду, получая масляно-водную эмульсию

26 Способ получения микрокапсул, являющихся препаратом пролонгированного высвобождения лейпрорелина, включающий

(а) растворение или суспендирование лейпрорелина в растворе органического растворителя биологически разлагающегося полимера, содержащего сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты,

(б) добавление этой смеси в водную среду для получения масляно-водной эмульсии,

(в) преобразование этой эмульсии в микрокапсулы путем удаления органического растворителя

27 Способ по п. 26, в котором лейпрорелин представлен в виде ацетата лейпрорелина

28 Способ по п. 26, в котором водная среда на этапе (б) является раствором поливинилового спирта в воде

29 Микрокапсула, полученная по способу в соответствии с п. 26

Настоящее изобретение относится к препаратам пролонгированного высвобождения, содержащим активный пептид, и способам их получения

Известный уровень техники представлен, например, препаратом пролонгированного высвобождения, раскрытом в описании к европейскому патенту EP-A-481732 и содержащем лекарственное средство, полимолочную кислоту и сополимер гликолевой и гидроксикарбоновой кислот  $[HOCH(C_2H_5)COOH]$  Приведенный способ предусматривает приготовление эмульсии типа "вода/масло", состоящей из внутренней водной фазы, содержащей водный раствор физиологически активного пептида, и внешней масляной фазы, содержащей раствор биологически разлагаемого полимера в органическом растворителе, введение указанной эмульсии типа "вода/масло" в воду или водную среду и переработку полученной эмульсии "вода/масло/вода" в микрокапсулы пролонгированного высвобождения (способ сушки в воде)

В японской выложенной заявке на патент 118512/1982 описывается микрокапсула, содержащая гормонально активный полипептид, биологически разлагаемый полимер и агент регулирования гидролиза полимера

Способ предложенный для ее получения предусматривает использование процесса коацервации, а именно введение агента коацервации в эмульсию типа "вода/масло", содержащую водный раствор полипептида в качестве внутренней водной фазы и галоидзамещенный органический растворитель в качестве масляной фазы, что позволяет получить микрокапсулы

В японской выложенной заявке на патент 121222/1989 описывается фармацевтический состав, содержащий полиактид, полигидролизид, сополимер молочной и гликолевой кислот или смесь этих полимеров и нерастворимый в воде пептид Также приведен способ его получения, в соответствии с которым соль нерастворимого в воде пептида диспергируют в растворе вышеупомянутых полиактида, полигидролизид, сополимера молочной и гликолевой кислот или смеси этих полимеров, удаляют растворитель путем испарения и формируют из полученной смеси твердые частицы

В японской выложенной заявке на патент 1506091/1982 описывается способ получения фармацевтического состава, содержащего полилактид и кислотостойкий полипептид, который, например предусматривает растворение хлористоводородного тетрагастрина и полилактида в водном растворе диоксана, отливку из полученного раствора пленки и испарение растворителя

В описании к европейскому патенту EP-A-0467389 излагается технология обеспечения системы доставки белков и полипептидов с использованием метода осаждения или метода микро-сфер

Однако в вышеуказанных источниках не описывается система, относящаяся именно к производным LH-RH (рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона)

Рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона, также обозначаемый сокращением LH-RH (или GnRH), вырабатывается гипоталамусом и воздействует на рецепторы гипофиза Лютеинизирующий гормон (LH) и фолликулостимулин (FSH), которые высвобождаются в результате указанного воздействия, воздействуют, в свою очередь, на половую железу, заставляя ее синтезировать стероидные гормоны Известны производные LH-RH, являющиеся агонистическими или антагонистическими пептидами

При многократном применении пептида с ярко выраженным агонистическим действием уменьшается число имеющихся рецепторов, так что подавляется синтезирование половой железой стероидных гормонов Поэтому предполагается, что производные рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона LH-RH являются ценными терапевтическими средствами лечения гормонально зависимых болезней таких, как рак простаты, доброкачественная простатомегалия, миома матки, метрострома, преждевременное половое созревание, рак молочной железы и т.п., а также противозачаточными средствами В этой связи, для антагонистов LH-RH так называемых первого и второго поколений отмечают проблему выброса гистамина (ж. Pharmaceuticals Monthly 32, стр. 1599-1605, 1990 г.), однако в настоящее время синтезировано множество новых соединений и

14) Препарат пролонгированного высвобождения по вышеприведенному пункту 1, в котором содержание физиологически активного пептида (по весу) составляет порядка 0,01 - 50%, по отношению к биологически разлагающемуся полимеру

В тех случаях, когда какие-либо другие аминокислоты обозначаются сокращениями, используются сокращения, рекомендуемые Комитетом Международного биохимического союза - Между-

народного союза чистой и прикладной химии (IUPAC-IUB) по биохимическим обозначениям (European Journal of Biochem (Европейский журнал биохимии) 138, стр 9 - 37, 1984 г.), или общеупотребимые в данной области сокращения. Если для какого-либо соединения существуют оптические изомеры, подразумеваются L-изомеры, если не указано иное.

Пептид (I), соответствующий настоящему изобретению, характеризуется антагонистическим действием по отношению к рилизинг-фактору лютеинизирующего гормона (LH-RH) и эффективен в качестве лекарства для лечения гормонально-зависимых болезней таких, как рак простаты, простатомегалия, эндометриоз, миома матки, метрострома, преждевременное половое созревание, рак молочной железы и т.д., а также в качестве противозачаточного средства.

Обратимся к обобщенной формуле (I). Ациловую группу X предпочтительно получают из карбоновой кислоты. В числе примеров ациловой группы можно привести алканойл  $C_{2-7}$ , циклоалкеноил  $C_{7-15}$  (например, циклогексеноил), алкилкарбамоил  $C_{1-6}$  (например, этилкарбамоил), пяти- или шестичленный гетероциклический карбонил (например, пиперидинокарбонил) и карбамоиловую группу, которая при желании может быть замещена. В качестве ациловой группы предпочтительно использовать алканойловую группу  $C_{2-7}$  (например, ацетил, пропионил, бутирил, изобутирил, пентанойл, гексанойл, гептанойл), которая может быть по желанию замещена, и более предпочтительно - алканойловую группу  $C_{2-4}$  (например, ацетил, пропионил, бутирил, изобутирил), которая по желанию может быть замещена. В качестве замещающих групп могут, например, использоваться алкиламиногруппа  $C_{1-6}$  (например, метил-амино, этиламино, диэтиламино, пропиламино), алканойламиногруппа  $C_{1-3}$  (например, формиламино, ацетиламино, пропиониламино), циклоалкеноиламиногруппа  $C_{7-15}$  (например, циклогексеноиламино), арилкарбониламиногруппа  $C_{7-15}$  (например, бензоиламино), пяти- или шестичленная гетероциклическая карбоксамидогруппа (например, тетрагидрофурилкарбоксамидо, пиридилкарбоксамидо, фурилкарбоксамидо), гидроксильная группа, карбамоиловая группа, формильная группа, карбоксильная группа, пяти- или шестичленная гетероциклическая карбоксамидогруппа (например, тетрагидрофурилкарбоксамидо, пиридилкарбоксамидо, фурилкарбоксамидо).

X - предпочтительно алканойловая группа  $C_{2-7}$ , которая по желанию может быть замещена пяти- или шестичленной карбоксамидогруппой.

Более предпочтительно, X - алканойловая группа  $C_{2-4}$ , которая по желанию может быть замещена тетрагидрофурилкарбоксамидо группой. В качестве конкретных примеров X можно привести ацетил,

$CONHCH_2CO-$  (тетрагидрофурилкарбоксамидоацетил) и т.п.

Ароматическая циклическая группа  $R_1$ ,  $R_2$  или  $R_4$  может быть, например, ароматической циклической группой с числом атомов углерода от 6 до 12. Примерами ароматической циклической группы являются фенил, нафтил, антрил и другие

группы. Предпочтительно использовать ароматические циклические группы с числом атомов углерода от 6 до 10 такие, как фенил и нафтил. У этих ароматических циклических групп может быть от 1 до 5, а предпочтительно от 1 до 3, подходящих замещающих групп для соответствующих позиций в кольце. К таким замещающим группам относятся гидроксил, галоген, аминотриазолил-замещенная аминогруппа, алкокси и т.п. Предпочтительными являются гидроксил, галоген и аминотриазолил-замещенная аминогруппа.

К вышеупомянутым галогенам относятся фтор, хлор, бром и йод.

Аминотриазолиловую часть указанной аминотриазолил-замещенной аминогруппы представляют, например, 3-амин-1H-1,2,4-триазол-5-ил, 5-амин-1H-1,3,4-триазол-2-ил, 5-амин-1H-1,2,4-триазол-3-ил, 3-амин-2H-1,2,4-триазол-5-ил, 4-амин-1H-1,2,3-триазол-5-ил, 4-амин-2H-1,2,3-триазол-5-ил и т.п.

Алкокси-группой предпочтительно является алкокси-группа с числом атомов углерода от 1 до 6 (например, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бutoкси, изобutoкси и т.п.).

В наиболее предпочтительном варианте  $R_1$  - нафтил или галофенил. В наиболее предпочтительном варианте  $R_2$  - галофенил. В наиболее предпочтительном варианте  $R_4$  - гидроксифенил или аминотриазолиламино-замещенный фенил.

Остаток D-аминокислоты  $R_3$  предпочтительно является остатком  $\alpha$ -Даминокислоты с числом атомов углерода от 3 до 12. Примерами таких аминокислот служат лейцин, изолейцин, норлейцин, валин, норвалин, 2-аминомасляная кислота, фенилаланин, серин, треонин, метионин, аланин, триптофан и аминокислоты. Эти аминокислоты могут включать подходящие защитные группы (в данной области используются такие защитные группы, как t-бутил, t-бutoкси, t-бutoксикарбонил и т.п.).

Гетероциклическая группа  $R_3'$  охватывает пяти- или шестичленные гетероциклические группы, каждая из которых содержит от 1 до 2 атомов азота или серы в качестве гетероатомов, которые при желании могут быть введены в бензольное кольцо. В частности, здесь можно указать тиенил, пирролил, тиазолил, изотиазолил, имидазолил, пирозолил, пиридил, 3-пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиазинил, 3-бенз/b/-тиенил, 3-бенз/b/3-тиенил, индолил, 2-индолил, изоиндолил, 1H-индазолил, бензоимидазолил, бензотиазолил, хинолил, изохинолил и другие группы. Особенно предпочтительными для  $R_3'$  являются пиридил и 3-бенз/b/-тиенил.

В качестве ароматической циклической группы  $R_5$  можно использовать ароматическую циклическую группу, аналогичную  $R_1$ ,  $R_2$  или  $R_4$ . Указанная ароматическая циклическая группа может иметь в соответствующих позициях кольца от 1 до 5, предпочтительно от 1 до 3, подходящих замещающих групп. Замещающие группы могут быть те же, что и замещающие группы, указанные для  $R_1$ ,  $R_2$ , и  $R_4$ . Особенно предпочтительным вариантом замещающей группы является аминотриазолил-замещенная аминогруппа.

Гликозидовая группа, применяемая в качестве

О-гликозила  $R_5$ , предпочтительно является гексозой или ее производной. Гексоза охватывает D-глюкозу, D-фруктозу, D-маннозу, D-галактозу, L-галактозу и т.п. В качестве указанной производной можно использовать дезоксисахара (L- и D-фукозу, D-хиновою, L-рамнозу и т.п.) и аminosахара (D-глюкозамин, D-галактозамин и т.д.) Все же наиболее предпочтительным вариантом является L-рамноза.

В качестве заместителя аминогруппы, которая по желанию может быть замещена,  $R_5'$ , можно, например, использовать ацил, карбамоил, карбазоил, который может быть замещен ацилом или амидиногруппой, которая, в свою очередь, может быть моно- и дизамещена алкилом.

Вышеупомянутый ацил и ацил, замещающий вышеупомянутый карбазоил, охватывает никотиноил, фурилоил, теноил и т.п.

Алкильную часть моно- или диалкиламидиногруппы, упомянутой выше, представляют алкильные группы с прямой и разветвленной цепью с числом атомов углерода от 1 до 4, то есть метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил и т.п. Здесь предпочтительным алкилом является метил или этил.

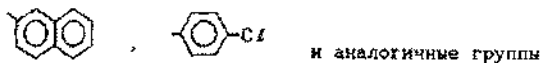
В качестве заместителя аминогруппы, которая по желанию может быть замещена,  $R_6'$ , используют, например, алкил и амидиногруппу, которая может быть моно- и дизамещена алкилом.

Вышеупомянутый алкил и алкил моно- и диалкиламидиногруппы, упомянутой выше, охватывает алкильные группы, указанные для  $R_5'$ .

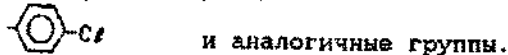
Остаток D-аминокислоты  $R_7$  предпочтительно является остатком D-аминокислоты с числом атомов углерода от 3 до 9 таким, как D-аланил, D-лейцил, D-валил, D-изолейцил, D-фениланил и т.п. Предпочтительным вариантом являются остатки D-аминокислоты с числом атомов углерода от 3 до 6 такие, как D-аланил, D-валил и т.п. Наиболее предпочтительным вариантом для  $R_7$  является D-аланил.

В качестве алкильной группы низшего порядка можно использовать алкильную группу  $R_5'$ . Наиболее предпочтительным вариантом Q является метил.

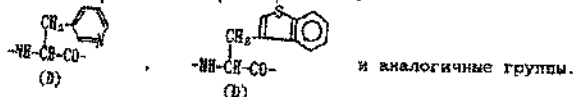
Конкретными примерами  $R_1$  являются



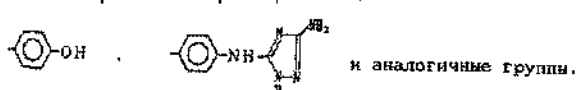
Конкретными примерами  $R_2$  являются



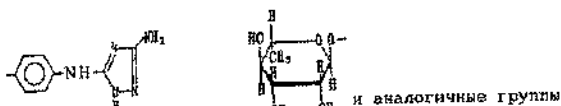
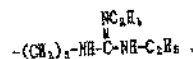
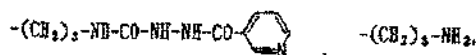
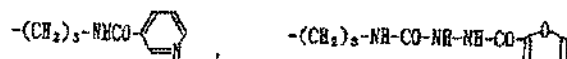
Конкретными примерами  $R_3$  являются



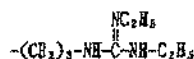
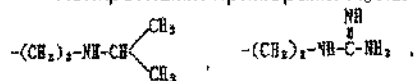
Конкретными примерами  $R_4$  являются



Конкретными примерами  $R_5$  являются

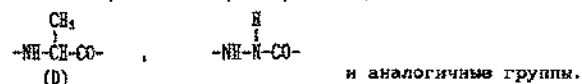


Конкретными примерами  $R_6$  являются



и аналогичные группы.

Конкретными примерами  $R_7$  являются



Если пептид (I) включает 1 или большее число асимметрических атомов углерода, существует два или большее число стереоизомеров. Любой из таких стереоизомеров, а также их смесь охватываются настоящим изобретением.

Пептид с обобщенной формулой (I) можно получить одним из известных способов. Типичные упомянутые способы описаны в патенте США №5110904.

Пептид (I) можно использовать в форме соли, предпочтительно соли, приемлемой с точки зрения фармакологии. Если пептид включает основные группы, например, аминогруппы, такой солью могут быть соли неорганических кислот (например, хлористоводородной кислоты, серной кислоты, азотной кислоты и т.п.) или органических кислот (например, угольной кислоты, угольноводородной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, трифторуксусной кислоты и т.п.). Если пептид включает кислотные группы, например карбоксил, такой солью могут быть соли неорганических оснований (например, щелочных металлов таких, как натрий, калий и т.п., и щелочно-земельных металлов таких, как кальций, магний и т.п.) или органических оснований (например, органических аминов таких, как триэтиламин, и основных аминокислот таких, как аргинин). Пептид (I) может быть в виде комплексного соединения металла (например, комплекса меди, комплекса цинка и т.п.). Предпочтительными солями пептида (I) являются соли органических кислот (например, угольной кислоты, угольноводородной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, трифторуксусной кислоты и т.п.). Наиболее предпочтительной солью является ацетат.

Особенно предпочтительными вариантами

пептида (I) или его соли являются следующие

(1) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DalaNH<sub>2</sub> или его ацетат,

(2) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> или его ацетат,

(3) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DalaNH<sub>2</sub> или его ацетат,

(4) CONHCH<sub>2</sub>COD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> или его ацетат,

(5) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-Tyr-DhArg(Et<sub>2</sub>)-Leu-hArg(Et<sub>2</sub>)-Pro-DalaNH<sub>2</sub> или его ацетат

В препарате пролонгированного высвобождения содержание пептида (I) может варьировать в зависимости от типа пептида, ожидаемого фармакологического действия и продолжительности этого действия и некоторых других факторов. Оно может быть в диапазоне от 0,01 до 50% (по весу), по отношению к биологически разлагающемуся полимеру. Предпочтительный диапазон составляет где-то от 0,1 до 40% (по весу), а наиболее предпочтительный диапазон составляет где-то от 1 до 30% (по весу).

Ниже будет описан биологически разлагаемый полимер с концевой карбоксильной группой.

Биологически разлагающийся полимер, в количестве от 1 до 3г, был растворен в смеси ацетона (25мл) и метилового спирта (5мл), а затем с использованием фенолфталеина в качестве индикатора в растворе были быстро протитрованы карбоксильные группы посредством 0,05 нормального спиртового раствора гидроксида калия в условиях перемешивания при комнатной температуре (20°C). Затем с применением ниже приведенного уравнения был подсчитан среднечисловой молекулярный вес, найденный по методу концевых групп.

Среднечисловой молекулярный вес, найденный по методу

концевых групп =  $20000 \cdot A/B$

где A - масса биологически разлагающегося полимера (г), а

B - количество 0,05 нормального спиртового раствора гидроксида калия (мл), добавленного до момента завершения титрования.

Результат вышеописанного расчета называется среднечисловым молекулярным весом, определенным по методу концевых групп.

Для иллюстрации рассмотрим полимер с концевой карбоксильной группой, полученный из одной или большего числа α-оксикислот, например, с использованием некаталитического безводного процесса поликонденсации. Его среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, приблизительно равен его среднечисловому молекулярному весу, найденному с использованием метода гель-проникающей хроматографии. В отличие от этого, в случае полимера, практически не включающего свободных концевых карбоксильных групп и, например, синтезированного из циклического димера с использованием полимеризационного процесса с размы-

канием кольца, среднечисловой молекулярный вес, полученный методом концевых групп, значительно превышает среднечисловой молекулярный вес, полученный с использованием метода гель-проникающей хроматографии. Благодаря указанной разнице полимер с концевой карбоксильной группой можно легко отличить от полимера, у которого нет концевой карбоксильной группы. Таким образом, термин "биологически разлагающийся полимер, имеющий концевую карбоксильную группу" здесь означает биологически разлагающийся полимер, характеризующийся практическим совпадением значений среднечислового молекулярного веса, определенного методом гель-проникающей хроматографии, и среднечислового молекулярного веса, определенного методом концевых групп.

В то время как среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, является абсолютной величиной, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии является относительной величиной, которая варьирует в зависимости от условий осуществления анализа и процедур (например, от типов подвижной фазы и колонки, эталонного вещества, выбранной ширины среза, выбранной базовой линии и т.п.). Поэтому в общем случае указанные две величины численно не коррелируются. Когда мы говорим о "практическом совпадении" величин среднечислового молекулярного веса, определенного методом гель-проникающей хроматографии, и среднечислового молекулярного веса, определенного методом концевых групп, мы имеем в виду, что среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, составляет где-то от 0,4 до 2, более предпочтительно от 0,5 до 2 и наиболее предпочтительно от 0,8 до 1,5 среднечислового молекулярного веса, определенного методом гель-проникающей хроматографии. Когда мы выше говорим "значительно больше", мы имеем в виду, что среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, где-то в 2 или большее число раз больше молекулярного веса, определенного методом гель-проникающей хроматографии.

Предпочтительным полимером для целей настоящего изобретения является полимер, характеризующийся практическим совпадением значений среднечислового молекулярного веса, определенного методом гель-проникающей хроматографии, и среднечислового молекулярного веса, определенного методом концевых групп.

В качестве конкретных примеров биологически разлагающегося полимера, имеющего концевую карбоксильную группу, можно упомянуть полимеры и сополимеры, а также их смеси, синтезированные из одной или большего числа α-оксикислот (например, гликолевой кислоты, молочной кислоты, оксимасляной кислоты и т.д.), оксикарбоновых кислот (например, яблочной кислоты и т.п.), окситрикарбоновых кислот (например, лимонной кислоты и т.п.) и других аналогичных кислот с использованием некаталитической дегидратационной реакции поликонденсации, из сложных эфиров поли-α-цианакриловой кислоты,



из полиаминокислот (например, поли-γ-бензил-L-глутаминовой кислоты и т.п.) из сополимеров малеиновых ангидридов (например, сополимера стирола и малеиновой кислоты и т.п.) и из других соединений

Полимеризация может быть статистической, блочной или привитой. В том случае, если любая из вышеупомянутых α-оксикислот, оксикарбоновых кислот и окситрикарбоновых кислот имеет в молекуле центр оптической активности, можно использовать любую из полученных D-, L-, и DL-форм

Биологически разлагающийся полимер, имеющий концевую карбоксильную группу, - это предпочтительно биологически разлагающийся полимер, представляющий смесь (А) сополимера гликолевой и оксикарбоновой кислот с общей формулой

R

|

(II)

HOOC-CH<sub>2</sub>-COOH

где R - алкильная группа с числом атомов углерода от 2 до 8, и (B) полимолочной кислоты или сополимера молочной и гликолевой кислот

Обратимся к общей формуле (II). Обозначаемая R, алкильная группа с прямой или разветвленной цепью и числом атомов углерода от 2 до 8, в том числе, включая этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, трет-пентил, 1-этилпропил, гексил, изогексил, 1,1-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 3,3-диметилбутил и 2-этилбутил. Среди них предпочтительными являются алкилы с прямой или разветвленной цепью с числом атомов углерода от 2 до 5. В частности, предпочтительными алкильными группами являются этил, пропил, изопропил, бутил и изобутил. Наиболее предпочтительным вариантом для R является этил

Оксикарбоновая кислота общей формулы (II), в том числе, охватывает 2-оксимасляную кислоту, 2-оксивалериановую кислоту, 2-окси-3-метилмасляную кислоту, 2-оксикапроновую кислоту, 2-оксизокапроновую кислоту и 2-оксикапроновую кислоту. Наиболее предпочтительным вариантом оксикарбоновой кислоты общей формулы (II) является 2-оксимасляная кислота. Поскольку указанные оксикарбоновые кислоты могут быть любыми D-, L- и D,L-соединениями, отношение D-/L- (моль %) предпочтительно находится в диапазоне где-то от 75/25 до 25/75

Более предпочтительно используется оксикарбоновая кислота с отношением D-/L (моль %), находящимся в диапазоне где-то от 60/40 до 40/60. Наиболее предпочтительным вариантом является оксикарбоновая кислота с отношением D-/L- (моль %), находящимся в диапазоне где-то от 55/45 до 45/55

Рассмотрим сополимер гликолевой и вышеуказанной оксикарбоновой кислоты с общей формулой (II) (ниже называемой сополимером гликолевой кислоты). Сополимеризация может быть статистической, блочной или привитого типа. Предпочтительными являются статистические сополимеры

Оксикарбоновые кислоты общей формулы (II) можно использовать как в отдельности, так и вместе

Предпочтительны следующие соотношения гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты (II) в указанном сополимере (А) гликолевой кислоты где-то от 10 до 75 моль % (% молярного веса) гликолевой кислоты, остальное - оксикарбоновая кислота. В более предпочтительном варианте сополимер состоит из 20 - 75 моль % гликолевой кислоты, а остальная его часть - оксикарбоновая кислота. В наиболее предпочтительном варианте сополимер включает порядка от 40 до 70 моль % гликолевой кислоты, остальное - оксикарбоновая кислота. Средневзвешенный молекулярный вес указанного сополимера гликолевой кислоты может варьировать от 2000 до 50000. Предпочтительный диапазон порядка от 3000 до 40000. Более предпочтительный диапазон где-то от 8000 до 30000. Показатель дисперсности (средневзвешенный молекулярный вес / среднечисловой молекулярный вес) предпочтительно находится в диапазоне где-то от 1,2 до 4,0. Особенно предпочтительны сополимеры с показателями дисперсности где-то от 1,5 до 3,5

Сополимер гликолевой кислоты (А) может быть синтезирован одним из известных способов, например с использованием способа, изложенного в описании японской выложенной заявки на патент № 28521/1986

Полимолочная кислота, используемая в настоящем изобретении может быть любым из L- и D-соединений или их смесью. Предпочтительны соединения с отношением D-/L- (в моль %) в диапазоне порядка где-то 75/25- 20/80. В более предпочтительном варианте отношение D-/L- для полимолочной кислоты (в моль %) находится в диапазоне от где-то 60/40 до 25/75. В самом предпочтительном варианте отношение D-/L- для полимолочной кислоты (в моль %) составляет где-то от 55/45 до 25/75. Средневзвешенный молекулярный вес полимолочной кислоты предпочтительно находится в диапазоне от где-то 1500 до где-то 30000 и более предпочтительно - в диапазоне от где-то 3000 до где-то 15000. Показатель дисперсности полимолочной кислоты предпочтительно находится в диапазоне от где-то 1,2 до где-то 4,0 и более предпочтительно - в диапазоне от где-то 1,5 до где-то 3,5

Полимолочная кислота может быть синтезирована двумя известными альтернативными способами, а именно способом, предусматривающим полимеризацию лактида с размыканием кольца, который (лактид) является димером молочной кислоты, и способом, предусматривающим дегидратационную поликонденсацию молочной кислоты. Для производства полимолочной кислоты со сравнительно небольшим молекулярным весом, подходящей для целей настоящего изобретения, предпочтителен способ, предусматривающий, прямую дегидратационную поликонденсацию молочной кислоты. Этот способ, например, описан в японской выложенной заявке на патент № 28521/1986

В фармацевтике для осуществления настоящего изобретения сополимер гликолевой кислоты

(А) и полимолочная кислота (В) используются при отношении (А)/(В) (по весу) от где-то 10/90 до где-то 90/10. Предпочтительное отношение ингредиентов смеси от где-то 20/80 до где-то 80/20. В наиболее предпочтительном варианте это отношение составляет от где-то 30/70 до где-то 70/30. Если содержание либо (А), либо (В) слишком велико, полученный конечный препарат будет характеризоваться картиной высвобождения лекарственного средства, не слишком отличающейся от картины, получаемой при использовании только одного соединения (А) или (В), то есть не удастся обеспечить линейный характер высвобождения на последней его стадии, обеспечиваемый смесью. Скорости разложения и удаления сополимера гликолевой кислоты и полимолочной кислоты различаются в значительной степени ввиду разницы в их молекулярных весах и составах, однако следует указать, что, поскольку скорости разложения и удаления сополимера гликолевой кислоты сравнительно высоки, период высвобождения можно увеличить, увеличив молекулярный вес полимолочной кислоты или увеличив значение отношения ингредиентов смеси (А)/(В). И, напротив, продолжительность высвобождения можно уменьшить, уменьшив вес полимолочной кислоты или значение отношения ингредиентов (А)/(В). Кроме того, продолжительность высвобождения можно регулировать, меняя вид и относительное содержание оксикарбоновой кислоты формулы (II).

Если в качестве биологически разлагающегося полимера используется сополимер молочной и гликолевой кислот, его отношение полимеризации (молочная кислота/гликолевая кислота) (моль %) предпочтительно находится в диапазоне от где-то 100/0 до где-то 40/60. Более предпочтительно, чтобы это отношение составляло от где-то 90/10 до где-то 50/50.

Средневзвешенный молекулярный вес указанного сополимера предпочтительно составляет от где-то 5000 до где-то 25000. Более предпочтительный диапазон от где-то 7000 до где-то 20000.

Степень дисперсности (средневзвешенный молекулярный вес/среднечисловой молекулярный вес) указанного сополимера предпочтительно находится в диапазоне от где-то 1,2 до где-то 4,0. Более предпочтительный диапазон составляет от где-то 1,5 до где-то 3,5.

Вышеупомянутый сополимер молочной и гликолевой кислот можно синтезировать известными способами, например, с использованием способа, описанного в японской выложенной заявке на патент 28521/1986.

Скорость разложения и удаления сополимера молочной и гликолевой кислот варьирует в большей степени в зависимости от состава и молекулярного веса, и в общем случае можно утверждать, что чем меньше содержание гликолевой кислоты, тем ниже скорость разложения и удаления. Следовательно, продолжительность высвобождения лекарства можно увеличить, уменьшив содержание гликолевой кислоты или увеличив молекулярный вес. И, напротив, продолжительность высвобождения можно уменьшить, увеличив содержание гликолевой кислоты или уменьшив

молекулярный вес. Для обеспечения препарата пролонгированного высвобождения (например, от 1 до 4 месяцев) предпочтительно использовать сополимер молочной и гликолевой кислот с отношением полимеризации, находящимся в указанном диапазоне, и со средневзвешенным молекулярным весом, находящимся в указанном диапазоне. В случае сополимера молочной и гликолевой кислот со скоростью разложения, превосходящей скорость, характерную для вышеуказанных диапазонов отношений полимеризации и средневзвешенных молекулярных весов, трудно контролировать первоначальный резкий выброс. С другой стороны, в случае сополимера молочной и гликолевой кислот, имеющего меньшую скорость разложения, чем скорость, характерная для указанных диапазонов отношений полимеризации и средневзвешенных молекулярных весов, могут быть периоды времени, в течение которых лекарство не выделяется в эффективном количестве.

В настоящем описании средневзвешенный молекулярный вес и степень дисперсности - это молекулярный вес и степень дисперсности, определенные в терминах полистирола методом гелепроникающей хроматографии. Здесь в качестве эталонных соединений использовались 9 полистиролов со средневзвешенными молекулярными весами 120000, 52000, 22000, 9200, 5050, 2950, 1050, 580, 162. Показатель дисперсности подсчитывался соответственно для одного и того же молекулярного веса. Указанный анализ был проведен с использованием колонки для гелепроникающей хроматографии KF804LX2 (ф. ШО-ВА ДЕНКО), RI-монитора L-3300 (ф. ХИТАЧИ) и хлороформа в качестве подвижной фазы.

Препарат пролонгированного высвобождения, соответствующий настоящему изобретению, получают путем растворения пептида (I) и биологически разлагающегося полимера с концевой карбоксильной группой в растворителе, а в основном не перемешивающемся с водой, а затем удаления указанного растворителя.

Растворитель, который в основном не перемешивается с водой, это растворитель, который не только практически не перемешивается с водой и который может обеспечить растворение биологически разлагающегося полимера, но это растворитель, который обеспечивает раствор полимера, способный растворить пептид (I). Предпочтительно, чтобы растворимость этого растворителя в воде была не более 3% (по весу) при комнатной температуре (20°C). Точка кипения такого растворителя предпочтительно не превышает 120°C. Соответственно, в качестве такого растворителя могут использоваться галоидированные углеводороды (например, дихлорметан, хлороформ, хлорэтан, трихлорэтан, четыреххлористый углерод и т.п.), простые алкиловые эфиры с числом атомов углерода 3 и более (например, простой изопропиловый эфир и т.п.), алкиловые простые эфиры жирных кислот с числом атомов углерода 4 и более (например, бутиловый эфир уксусной кислоты и т.п.), ароматические углеводороды (например, бензол, толуол, ксилол и т.п.) и другие соединения. Можно использовать смеси двух или большего числа этих растворителей в подходящем соот-

ношении Наиболее предпочтительными растворителями являются галогидрированные углеводороды (такие, как дихлорметан, хлороформ, хлорэтан, трихлорэтан, четыреххлористый углеводород и т.п.) Наиболее предпочтителен дихлорметан

Удаление растворителя может быть осуществлено с использованием одной из известных процедур Например, можно использовать способ, предусматривающий выпаривание растворителя при атмосферном давлении или при постепенном его понижении в условиях постоянного перемешивания смесителем с пропеллерной мешалкой или магнитным смесителем, или способ, состоящий в выпаривании растворителя в ротационном выпарном аппарате в условиях контролируемого вакуума

Рассмотрим способ получения препарата пролонгированного высвобождения, соответствующий изобретению Растворение пептида (I) и биологически разлагающегося полимера с концевой карбоксильной группой означает достижение такого условия, когда в полученном растворе визуально не обнаруживается остаток нерастворившегося пептида при комнатной температуре (20°C) В этой тройной системе, состоящей из пептида (I), биологически разлагающегося полимера и растворителя, количество пептида, могущего быть растворенным, зависит от числа концевых карбоксильных групп на единицу веса биологически разлагающегося полимера Теоретически, если пептид и концевая карбоксильная группа взаимодействуют в соотношении 1 к 1, может быть растворено одинаковое молярное количество пептида и концевой карбоксильной группы Поэтому трудно прийти к обобщению с учетом растворителя и молекулярного веса пептида и биологически растворяющегося полимера Однако при осуществлении способа получения препаратов пролонгированного высвобождения пептид может быть растворен в диапазоне от где-то 0,1 до где-то 100% (по весу), предпочтительно в диапазоне от где-то 1 до где-то 70% (по весу) и наиболее предпочтительно в диапазоне от где-то 2 до 50% (по весу), по отношению к биологически разлагающемуся полимеру, растворенному в растворителе

Далее, настоящее изобретение связано со способом получения препарата пролонгированного высвобождения, в соответствии с которым биологически разлагающийся полимер, состоящий из смеси (A) сополимера гликолевой кислоты и оксикарбоновой кислоты общей формулы



где R представляет алкильную группу с числом атомов углерода от 2 до 8, и (B) полимолочной кислоты, и в основном нерастворимый в воде физиологически активный пептид или его соль растворяют в растворителе, который в основном не перемешивается с водой, а затем удаляют указанный растворитель

В способе производства в соответствии с изобретением, в основном нерастворимый в воде физиологически активный пептид не ограничен и охватывает естественные, синтетические и полу-

синтетические пептиды Предпочтительными являются пептиды, содержащие одну или большее число ароматических групп (например, групп, полученных из бензола, нафталина, фенантрена, антрацена, пиридина, пиrolа, индола и т.п.) в своих боковых цепях Более предпочтительным вариантом физиологически активных пептидов являются соединения с 2 или большим числом ароматических групп в боковых цепях Особенно предпочтительным вариантом физиологически активных пептидов являются пептиды с 3 или большим числом ароматических групп в боковых цепях Эти ароматические группы могут быть в дальнейшем замещены

В основном нерастворимый в воде физиологически активный пептид, соответствующий настоящему изобретению, предпочтительно является пептидом с растворимостью в воде не более 1%, содержащий одну или большее число аминокислот и имеющий молекулярный вес в диапазоне от где-то 200 до 30000 Более предпочтителен диапазон молекулярного веса от где-то 30 до где-то 20000 и еще более предпочтителен диапазон от где-то 500 до где-то 10000

В качестве примеров указанного физиологически активного пептида можно привести антагонистические производные релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) (см патенты США №№ 4086219, 4124577, 4253997, 4317815 и другие), инсулин, соматостатин, производные соматостатина (см патенты США №№ 4087390, 4093574, 4100117, 4253998 и т.п.), гормон роста, пролактин, аденокортикотропный гормон (ACTH), меланоцитстимулирующий гормон (MSH), соли и производные рипизинг-фактора тиреоидного гормона (см JP Kokai S-50-121273 и S-52-116465), тиреоидстимулирующий гормон (TSN), лютеинизирующий гормон (LH), фолликулстимулирующий гормон (FSH), вазопрессин, производные вазопрессина, окситоцин, кальцитонин, гастрин, секретин, панкреозимин, холецистокинин, ангиотензин, человеческий плацентарный лактоген, человеческий хориогонический гонадотропин (HCG), энкефалин, производные энкефалина (см патент США № 4277394, европейский патент EP-A № 31567), эндорфин, кистрфин, туфтсин, тимопоизин, тимозин, тимостимулин, гуморальный фактор вилочной железы (THF), сывороточный фактор вилочной железы (FTS) и его производные (см патент США № 4229438), другие факторы вилочной железы, фактор опухолевого некроза (TNF), колониестимулирующий фактор (CSF), мотипин, динорфин, бомбезин, нейротензин, церулеин, брадикинин, атриальный натруретический фактор, фактор роста нервов, фактор роста клеток, нейротропный фактор, пептиды, характеризующиеся антагонистической активностью по отношению к эндотелину (см европейские патенты EP-A №№ 436189, 457195 и 496452, JP Kokai H-3-94-692 и 03-130299) и фрагменты и производные указанных физиологически активных пептидов

Конкретными примерами физиологически активных пептидов являются физиологически активные пептиды и их соли, характеризующиеся антагонистическим действием по отношению к релизинг-фактору лютеинизирующего гормона

(LH-RH), которые можно использовать для лечения гормональнозависимых болезней таких, как рак простаты, гипертрофия простаты, эндометриоз, миома матки, преждевременное созревание, рак груди и других болезней, а также в качестве противозачаточных средств

Физиологически активный пептид, используемый в соответствии с настоящим изобретением, может быть в форме соли, предпочтительно в форме фармацевтически приемлемой соли. Если пептид включает основную группу, например аминогруппу, вышеупомянутая соль может, например, быть солью, образованной неорганической кислотой (например, хлористоводородной кислотой, серной кислотой, азотной кислотой и т.п.) или органической кислотой (например, уксусной кислотой, угольной кислотой, углеводородной кислотой, янтарной кислотой, пропионовой кислотой, трифторуксусной кислотой и т.п.). Если пептид включает кислотную группу, например, карбоксил, соль, например, может быть солью, образованной неорганическим основанием (например, щелочными металлами такими, как натрий, калий и т.п., и щелочноземельными металлами такими, как кальций, магний и т.п.) или органическим основанием (например, органическими аминами такими, как триэтиламин и т.п., основными аминокислотами такими, как аргинин и т.п.). Пептид также может быть в форме комплексных металлических соединений (например, медного комплекса, цинкового комплекса и т.п.).

Конкретные примеры физиологически активного пептида или его соли можно найти в патенте США № 5110904, "Журнале медицинской химии" 34, стр. 2395-2402, 1991 г., ж. "Последние результаты в исследованиях рака" (Recent Results in Cancer Research) 124, стр. 113-136, 1992 г. и других источниках.

Далее, среди других пептидов следует также упомянуть физиологически активные пептиды с обобщенной формулой (I) и их соли.

Следует заметить, что, даже в том случае, когда физиологически активный пептид растворим в воде, из него можно получить производное нерастворимое соединение или же его можно превратить в нерастворимую в воде соль нерастворимой в воде кислоты (например, паминовой кислоты, дубильной кислоты, стеариновой кислоты, пальмитиновой кислоты и т.п.) и использовать в осуществлении способа по настоящему изобретению.

Количество физиологически активного пептида в препаратах, соответствующих изобретению, зависит от вида пептида, желаемого фармакологического эффекта, необходимой продолжительности действия этого эффекта и других факторов. Тем не менее, в общем случае можно отметить, что он используется в количестве от где-то 0,001 до где-то 50% (по весу), предпочтительно от где-то 0,01 до где-то 40% (по весу) и более предпочтительно от где-то 0,1 до где-то 30% (по весу) относительно биологически разлагающегося полимера, являющегося основой.

Используемый в данном способе растворитель тот же, что упомянут выше.

Удаление растворителя может быть осуществлено так, как это описано выше.

Предпочтительный способ получения препарата пролонгированного действия, соответствующего изобретению, представляет способ микрокапсулирования, в соответствии с которым используется метод сушки в воде или метод разделения фаз, описанные ниже, или любой другой аналогичный им способ.

Способ, описанный ниже, может быть осуществлен с использованием пептида (I) или в основном нерастворимого в воде физиологически активного пептида, содержащего пептид (I).

Таким образом, пептид (I) добавляют в раствор биологически разлагающегося полимера в органическом растворителе с конечным весовым соотношением, указанным выше для такого пептида, и получают раствор в органическом растворителе, содержащий пептид (I) и биологически разлагающийся полимер. В этом случае концентрация биологически разлагающегося полимера в органическом растворителе варьирует в зависимости от молекулярного веса биологически разлагающегося полимера и типа органического растворителя, но обычно находится в диапазоне от где-то 0,01 до где-то 80% (по весу). В более предпочтительном варианте этот диапазон составляет от где-то 0,1 до где-то 70% (по весу). В еще более предпочтительном варианте указанный диапазон составляет от где-то 1 до где-то 60% (по весу).

Затем раствор органического растворителя, содержащий пептид (I) и биологически разлагающийся полимер (масляная фаза), добавляют в водную фазу с получением эмульсии типа "масляная фаза/водная фаза". Растворитель масляной фазы затем выпаривают, обеспечивая микрокапсулы. Объем водной фазы, требуемый для осуществления этой процедуры, обычно выбирается в диапазоне от где-то 1 до где-то 10000 раз превышения объема масляной фазы. Более предпочтительный диапазон составляет от где-то 2 до где-то 5000 раз превышении наиболее предпочтительный диапазон составляет от где-то 5 до где-то 2000 раз превышения.

В вышеупомянутую водную фазу можно ввести эмульгатор. В качестве эмульгатора, как правило, можно использовать любое вещество, которое способствует образованию устойчивой эмульсии типа "масло/вода". В частности, можно упомянуть анионные поверхностно-активные вещества (олеиновокислый натрий, стеариновокислый натрий, лаурилсульфат натрия и т.п.), неионные поверхностно-активные вещества (сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитановой жирной кислоты "Твин 80" и "Твин 60", "Атлас Паудер", производные полиоксиэтиленкасторового масла "НСО-60" и "НСО-50", "Никко Кемикэлз" и т.п., поливинилпирролидон, поливиниловый спирт, карбоксиметилцеллюлозу, лецитин, желатин, гиалуроновую кислоту и другие соединения. Эти эмульгаторы можно использовать по отдельности или в сочетании. Концентрацию можно выбирать где-то в диапазоне от 0,001 до 20% (по весу). Предпочтительный диапазон от где-то 0,01 до где-то 10% (по весу) и наиболее предпочтительный диапазон где-то от 0,05 до 5% (по весу).

Полученные микрокапсулы отделяют центрифугированием или фильтрацией и промывают

несколькими порциями дистиллированной воды с целью удаления свободного пептида, раствора и эмульгатора с поверхности, а затем повторно диспергируют в дистиллированной воде или аналогичной среде и лиофилизируют. Затем при необходимости микрокапсулы нагревают при пониженном давлении для дальнейшего удаления из внутренней части микрокапсул оставшихся воды и органического растворителя.

Предпочтительно эта процедура осуществляется при нагревании до температуры, несколько (на 5°C или больше) превышающей среднюю температуру стеклования биологически разлагающегося полимера, определенную с использованием дифференциального сканирующего калориметра при приращениях температуры от 10° до 20°C/мин, и поддержании этой температуры в течение периода времени обычно не более 1 недели или 2-3 дней, а предпочтительно не более 24 часов после ее достижения микрокапсулами.

При получении микрокапсул методом разделения фаз в раствор указанных физиологически активного пептида и биологически разлагающегося полимера в органическом растворителе постепенно вводят агент коацервации при постоянном перемешивании, так что биологически разлагающийся полимер выделяется и затвердевает. Этот агент коацервации вводят в объеме, составляющем от где-то 0,01 до где-то 1000 раз объема раствора в органическом растворителе пептида (I) и биологически разлагающегося полимера. Предпочтительный диапазон составляет где-то от 0,05 до 500 раз, а наиболее предпочтительный диапазон составляет где-то от 0,1 до 200 раз.

Агент коацервации может быть соединением типа полимера, минерального или растительного масла, которое перемешивается с растворителем биологически разлагающегося полимера, однако при этом не растворяет полимер. В частности, здесь можно указать силиконовое масло, кунжутное масло, соевое масло, кукурузное масло, хлопковое масло, кокосовое масло, льняное масло, минеральное масло, n-гексан, n-гептан и другие соединения. Эти вещества можно использовать совместно.

Полученные микрокапсулы отделяют методом фильтрации и несколько раз промывают гептаном или аналогичным соединением с целью удаления агента коацервации. Затем удаляют свободный пептид и растворитель с использованием той же процедуры, которая была описана для метода сушки в воде.

Как в случае метода сушки в воде, так и в случае метода коацервации можно ввести ингибитор агрегации, чтобы предотвратить агрегацию частиц. В качестве ингибитора агрегации, в частности, можно использовать растворимые в воде полисахариды такие, как маннит, лактоз, глюкоза, крахмал (например, кукурузный крахмал) и т.п., глицин, белки такие, как фибрин, коллаген и т.п., и не органические соли такие, как хлористый натрий, вторичный кислый фосфорнокислый натрий и т.п.

При получении микрокапсул методом сушки в струе указанный раствор пептида (I) и биологически разлагающегося полимера в органическом

растворителе впрыскивается в виде тумана через сопло в сушильную камеру, где из тонко распыленных капель жидкости очень быстро выпаривается растворитель с получением крохотных микрокапсул. Здесь можно применить двухпоточное сопло, сопло давления, сопло с поворотным диском и т.п. При реализации данного способа целесообразно впрыскивать водный раствор упомянутого ингибитора агрегации через второе сопло для предотвращения межкапсульной агрегации во временной корреляции с указанной разбрызгиваемой струей раствора пептида (I) и биологически разлагающегося полимера в органическом растворителе.

При необходимости оставшиеся воду и органический растворитель удаляют путем нагревания полученных микрокапсул при пониженном давлении точно так же, как это было описано выше.

Микрокапсулы могут применяться такими, как они есть, или перерабатываться в различные фармацевтические препараты для введения не пероральным способом (внутримышечные и подкожные инъекции, инъекции внутрь органов, имплантации, назальные, ректальные, маточные трансмукозальные системы доставки и т.п.) или для приема пероральным способом (например, твердые препараты такие, как капсулы (твердые капсулы, мягкие капсулы и т.п.), гранулы, порошки и т.п. и жидкие препараты такие, как сиропы, эмульсии, суспензии и другие).

Для переработки микрокапсул в форму, пригодную для инъекций, они, например, могут объединяться с диспергирующим агентом (например, поверхностно-активным веществом таким, как "Твин 80", "НСО-60" и т.п., карбоксиметилцеллюлозой, полисахаридом таким, как альгинат натрия и т.п., антикоагулятором (например, метилпарааминобензойной кислотой, пропилапарааминобензойной кислотой и т.п.) или изотонизирующим агентом (например, хлористым натрием, маннитом, сорбитом, глюкозой и т.п.), обеспечивая водную суспензию, или микрокапсулы могут диспергировать в растительном масле, например, кунжутном масле и т.п., обеспечивая масляную суспензию, используемую для инъекций с контролируемым высвобождением препарата.

Размер частиц-микрокапсул таких суспензий для инъекций должен быть в диапазоне, удовлетворяющем требованиям диспергируемости и прохождения через иглу, и может, например, варьировать от где-то 0,1 до где-то 500 мкм. Предпочтительные размеры частиц находятся в диапазоне от где-то 1 до где-то 300 мкм и наиболее предпочтительные размеры частиц находятся в диапазоне от где-то 2 до где-то 200 мкм.

Для обеспечения стерильности микрокапсул в течение всего производственного цикла проводится контроль стерильности, микрокапсулы стерилизуются путем облучения гамма-лучами или введения какого-либо консервирующего средства, однако могут быть и другие процедуры.

Изобретение позволяет получать не только микрокапсулы. Состав биологически разлагающегося полимера, содержащего пептид в качестве активного ингредиента, хорошо диспергированный подходящим способом, может быть расплавлен и

отформован в шарик, стерженьки, иглы или пленку, обеспечивая препарат пролонгированного действия, соответствующий настоящему изобретению. Упомянутый состав биологически разлагающегося полимера можно получить способом, описанным в японской патентной публикации JP S-50-17525. В частности, лекарственный пептид и полимер растворяют в растворителе, а затем растворитель удаляют подходящим способом (например, с использованием сушки распылением, мгновенного испарения и т.п.), получая требуемый состав биологически разлагающегося полимера.

Препарат пролонгированного высвобождения, соответствующий настоящему изобретению, может быть введен в организм с использованием внутримышечных, подкожных и внутриоргановых инъекций или имплантаций, трансмукозальной системы доставки с введением через носовую полость, прямую кишку или матку, или же в виде перорального препарата (например, твердого препарата такого, как капсулы (твердые или мягкие), гранулы, порошок и т.п., или жидкого препарата, например, в виде сиропа, эмульсии, суспензии и т.п.).

Препарат пролонгированного высвобождения, соответствующий настоящему изобретению, характеризуется малой токсичностью и его с полной безопасностью можно давать млекопитающим (например, человеку, корове, свинье, собаке, копытным, крысе и кролику).

Дозировка препарата пролонгированного высвобождения зависит от типа и содержания активного лекарственного пептида, конечной формы препарата, продолжительности высвобождения пептида, цели введения препарата (гормонозависимые болезни такие, как рак простаты, простатомегалия, эндометриоз, метрострома, преждевременное половое созревание, рак молочной железы и т.п., предотвращение беременности) и вида организма, который подвергается воздействию препарата, однако в любом случае необходимо, чтобы в организм успешно поставлялось эффективное количество пептида. Единичная доза активного лекарственного пептида, если, например, имеется в виду система доставки лекарства, работающая в течение 1 месяца, предпочтительно выбирается где-то от 0,01 до 100 мг/кг веса тела для взрослого человека. Более предпочтительный диапазон составляет где-то от 0,05 до 50 мг/кг веса тела. Наиболее предпочтительный диапазон составляет где-то от 0,1 до 10 мг/кг веса тела.

Соответственно, единичная дозировка препарата пролонгированного высвобождения выбирается для взрослого человека в диапазоне где-то от 0,1 до 500 мг/кг веса тела. Более предпочтительно этот диапазон составляет где-то от 0,2 до 300 мг/кг веса тела. Препарат может вводиться с частотой, например, от 1 раза в несколько недель и 1 раза в месяц до 1 раза в несколько месяцев, при этом указанная частота определяется типом и содержанием активного лекарственного пептида, конечной формой дозы, необходимой продолжительностью высвобождения пептида, болезнью, которую требуется лечить, и типом организма, требующего лечение.

Оптимальный способ осуществления изобретения

Следующие справочные рабочие примеры приведены лишь с целью более подробного описания изобретения и ни в коем случае не ограничивают объема изобретения (Если не указано иное, % означают % по весу).

Сокращения, используемые ниже, имеют следующие значения

ВOC трет-бутоксикабонил

FMOC 9-флуоренилметоксикабонил

Cbz бензилоксикабонил

Справочный пример 1

Бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000 мл, снабженная трубой подвода азота и конденсатором, была заправлена 300 г 90% водного раствора D, L-молочной кислоты и 100 г 90% водного раствора L-молочной кислоты, а затем содержимое бутылки нагревалось в потоке газообразного азота при сниженном давлении от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 4 часов при постоянном отводе водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3 - 5 мм рт.ст. от 150 до 180°C в течение 7 часов, после чего она была охлаждена с получением полимолочной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000 мл ди-хлорметана, и раствор был залит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран, высушен в вакууме при 30°C.

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса указанной полимолочной кислоты, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и ее среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, соответственно составляет 3000, 1790 и 1297.

Эти данные показали, что полимер содержит концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 2

Бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000 мл, снабженная трубой для подвода азота и конденсатором была заправлена 500 г 90% водного раствора D, L-молочной кислоты, а затем содержимое бутылки нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 4 часов при постоянном отводе водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3 - 5 мм рт.ст. до 180°C в течение 12 часов, после чего она была охлаждена с получением полимолочной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000 мл ди-хлорметана и раствор был влит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен при 30°C в вакууме.

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса указанной полимолочной кислоты, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и ее среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, соответственно составляли 5000, 2561 и 1830.

Эти данные показали, что полимер содержит

концевые карбоксильные группы

Справочный пример 3

Бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженная трубой для подвода азота и конденсатором, была залита 300г 90% водного раствора D,L- молочной кислоты и 100г 90% водного раствора L-молочной кислоты, а затем содержимое бутыли нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 5 часов при постоянном удалении водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 5-7 мм рт.ст. от 150° до 180°C в течение 18 часов, после чего она была охлаждена с получением полимолочной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор влит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран, высушен в вакууме при 30°C.

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса вышеуказанной полимолочной кислоты, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и ее среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, соответственно составляют 7500, 3563 и 2301.

Эти данные показали, что полимер содержит концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 4

Бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженная трубой для подачи азота и конденсатором, была заполнена 300г 90% водного раствора D,L- молочной кислоты и 100г 90% водного раствора L-молочной кислоты, а затем содержимое бутыли нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 5 часов при постоянном удалении водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 5-7 мм рт.ст. от 150° до 180°C в течение 26 часов, после чего она была охлаждена с получением полимолочной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор влит в теплую воду температурой 60 С при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 30°C.

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса вышеуказанной полимолочной кислоты, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и ее среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп, соответственно составляют 9000, 3803 и 2800.

Эти данные показали, что полимер содержит концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 5

Бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженная трубой для подачи азота и конденсатором, была залита 182,5г гликолевой кислоты и 166,6г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое бутыли нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/

500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 3,5 часов при постоянном удалении водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 5-7 мм рт.ст. от 150°C до 180°C в течение 26, часов после чего она была охлаждена с образованием сополимера гликолевой кислоты и 2-оксимасляной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор влит в теплую воду температурой 60°C при постоянной перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 25°C.

Средневзвешенный молекулярный вес полученного полимера гликолевой кислоты и 2-оксимасляной кислоты, полученный методом гель-проникающей хроматографии, составляет 13000.

Справочный пример 6

В бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 197,7г гликолевой кислоты и 145,8г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое бутыли нагревалось в потоке газообразного азота от 100°C/500 мм рт.ст. до 155°C/30 мм рт.ст. в течение 4 часов при постоянном удалении водного дистиллята. Реакционная смесь затем была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3-6мм рт.ст. от 150 С до 185°C в течение 27 часов, после чего она была охлаждена с образованием сополимера гликолевой кислоты и 2-оксимасляной кислоты, характеризующегося янтарным цветом.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана, а раствор влит в теплую воду температурой 80°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 25°C.

Средневзвешенный молекулярный вес полученного сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, определенный методом гель-проникающей хроматографии, составляет 13000.

Справочный пример 7

В бутыль с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 212,9г гликолевой кислоты и 124,9г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое бутыли нагревалось в потоке газообразного азота от 100°C/500 мм рт.ст. до 160°C/30 мм рт.ст. в течение 3,5 часов с постоянным удалением водного дистиллята. Реакционная смесь затем подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3-6 мм рт.ст. от 160°C до 180°C в течение 27 часов, после чего она была охлаждена с образованием сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, имеющего янтарный цвет.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана, а раствор влит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 25°C.

Средневесовой молекулярный вес сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, определенный методом гель-проникающей хроматографии, составляет 11000.

Справочный пример 8

В бутылку с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 300г 90% водного раствора D,L-молочной кислоты и 100г 90% водного раствора L-молочной кислоты и содержимое бутылки в течение 4 часов нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт ст до 150°C/30 мм рт ст при постоянном удалении водного дистиллята. Реакционная смесь затем была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3-5 мм рт ст от 150°C до 180°C в течение 10 часов, после чего она была охлаждена с образованием полимолочной кислоты янтарного цвета.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор был влит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный осадок был собран и высушен в вакууме при 30°C.

Среднемолекулярной и среднечисловой молекулярные веса указанной полимолочной кислоты, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и ее среднечисловой молекулярный вес, найденный методом концевых групп, соответственно составляют 4200, 2192, и 1572.

Эти данные показали, что полимер содержит концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 9

В бутылку с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 182,5г гликолевой кислоты и 166,6г D,L-2-оксимасляной кислоты и содержимое бутылки в течение 3,5 часов нагревалось в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт ст до 150°C/30 мм рт ст при постоянном отводе водного дистиллята. Реакционная смесь затем была подвергнута нагреванию при пониженном давлении 5-7 мм рт ст от 150° до 180°C в течение 32 часов, после чего смесь была охлаждена с образованием сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, имеющего янтарный цвет.

Полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор был залит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 25°C.

Среднемолекулярной и среднечисловой молекулярные веса полученного сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, определенные методом геля - проникающей хроматографии, и среднечисловой молекулярный вес указанного сополимера, определенный методом концевых групп, составляют соответственно 16300, 5620 и 2904.

Эти данные показали, что у полимера есть концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 10

Синтез NAcD2NaI-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NmeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub>

Синтез по справочным примерам 10 и 11 был осуществлен в соответствии с описанием патента США № 5110904 и заявкой на патент США № 07/987921.

В реактор установки для синтеза пептида был введен 1г смолы DA-Ia-NH (смолы 4-метилбензгидриламина), после чего для синтеза

вышеназванного пептида добавлялись аминокислоты в соответствии с нижеприведенной последовательностью синтеза.

1 Реакция снятия защиты

Для устранения защитных групп BOC из альфа-аминокислоты пептида использовался раствор, содержащий 45% трифторуксусной кислоты, 2,5% диметилфосфита и 50,5% дихлорметана. После предварительной промывки смолы указанным раствором в течение 1 минуты, 20 минут проводилась реакция снятия защиты.

2 Промывка основным раствором

Для удаления и нейтрализации трифторуксусной кислоты, которая применялась при проведении реакции снятия защиты, использовался раствор дихлорметана, содержащий 10% N,N'-диизопропилэтиламина. При каждом проведении реакции снятия защиты смола промывалась три раза за 1 минуту.

3 Реакция присоединения

Была проведена реакция присоединения с использованием в качестве активаторов трехмолярного количества 0,3 мольного раствора диизопропилкарбодиимида/дихлорметана и трехмолярное количество 0,3 мольного раствора производной BOC-аминокислоты/N,N'-диметилформамида. Активированная аминокислота была присоединена к свободной альфа-аминогруппе пептида смолы. Время проведения реакции приведено ниже.

4 Промывка

После завершения всех реакций смола была промыта дихлорметаном, дихлорметаном/N,N'-диметилформамидом и N,N'-диметилформамидом - каждым составом по 1 минуте.

Протокол синтеза

Аминокислоты с защищенными аминогруппами сочетались со смолой в порядке с кратностью и временем проведения реакции, приведенными ниже.

Порядок	Аминокислота	Число раз	- время
1	BOC-Pro	2 раза	1 час
2	BOC-Lys(N-epsilon-Cbz, isopropyl)	2 раза	1 час
3	BOC-Leu	2 раза	1 час
4	BOC-D-Lys(N-epsilon-Fmoc)	2 раза	1 час
5	BOC-NMeTyr (0-2, 6-diCl-Bzl)	2 раза	1 час
6	BOC-Ser(OBzl)	2 раза	1 час
7	BOC-D-3Pal	2 раза	6 часов
8	BOC-D-4CIPhe	2 раза	2 часа
9	BOC-D2NaI	2 раза	2 часа
10	Угольная кислота	2 раза	2 часа

После завершения реакции синтеза смолы обрабатывалась 30% раствором пиперидина в N,N'-диметилформамиде в течение промежутка времени от 4 до 24 часов с целью удаления защитной группы FMOC. Смола несколько раз была промыта.



та дихлорметаном, а затем вступила в реакцию с карбонилдиимидазолом (0,9г), растворенным в N,N'-диметилформамиде (18мл), которая (реакция) длилась 15 минут, после чего 3 раза была промыта дихлорметаном и вступила в реакцию с 2-фуранкарбонным гидразидом (0,53г), растворенным в N,N'-диметилформамиде (18мл), которая проводилась в течение всего ночного времени. Полученная смола-пептид была три раза промыта дихлорметаном, а затем на все ночное время подвергнута сушке в присутствии пятиокиси фосфора и после этого обработке в течение часа сухим фтористым водородом при 0°C в присутствии анизола, чтобы отделить пептид от смолы. Избыточный реагент удалялся с использованием вакуума. Полученная таким образом смола сначала была промыта эфиром, затем перемешивалась в течение 15 минут при комнатной температуре в 50мл смеси воды, ацетонитрила и уксусной кислоты (1:1:0,1), после чего была профильтрована. Фильтрат лиофилизировался с образованием неочищенного пептида в виде рыхлого порошка. Этот пептид был очищен с использованием высококачественной жидкостной хроматографии (HPLC) при следующих условиях:

(1) Колонка Дайнамакс C-18 (25x2,5см, 8мкм)

(2) Растворитель: Возрастающий градиент ацетонитрила за период времени 20 минут, по отношению к исходному раствору из 89% воды, 11% ацетонитрила и 0,1% TFA

(3) Определение длины волны: 260нм (ультрафиолетовый метод)

Пептид, характеризующийся, как показал анализ, одним пиком для времени удержания 25,7 минуты, был собран и лиофилизирован с образованием очищенного продукта NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> в форме трифторацетата. Ниже приведены физические характеристики очищенного продукта:

Масс-спектрометрия с использованием бомбардировки быстрыми атомами (FAB масс-спектрометрия)  $m/e$  1591 (M+H)<sup>+</sup>

Анализ аминокислот: 0,98 Ala, 1,02 Pro, 1,58 Lys, 1,00 Leu, 1,12 NMeTyr, 0,52 Ser

Указанный трифторацетат пептида был превращен в ацетат с использованием геля-фильтрационной колонки, предварительно уравновешенной 1N-раствором уксусной кислоты. Использовались следующие условия геля-фильтрации:

(1) Набивка Sephadex G-25 (диаметр внутреннего отверстия колонки 16мм, высота слоя набивки 40мм)

(2) Растворитель: 1N раствор уксусной кислоты

(3) Длина волны, используемая для анализа: 254нм (ультрафиолетовый метод)

Фракция первого пика элюирования была собрана и лиофилизирована с образованием очищенного продукта NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyrDLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> в форме ацетата

Справочный пример 11

Синтез NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub>

Вышеназванный пептид был синтезирован тем же способом, что и пептид справочного примера 10, за исключением того, что вместо 2-фуранкарбонного гидразита использовался 2-никотиновый гидразит (0,575г). Время удержания в системе высококачественной жидкостной хроматографии для таким образом полученного очищенного продукта составляло 16,0 минут. Ниже приводятся данные по физическим свойствам очищенного продукта:

FAB масс-спектрометрия  $m/e$  1592 (M+H)<sup>+</sup>

Анализ аминокислот: 1,02 Ala, 1,01 Pro, 1,61 Lys, 0,99 Leu, 1,12 NMeTyr, 0,48 Ser

Вышеуказанный трифторацетат пептида был превращен в ацетат таким же способом, как и в случае справочного примера 10

Справочный пример 12

В бутыл с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 322г 90% водного раствора D,L-молочной кислоты и 133г гликолевой кислоты, и содержимое бутылки нагревалось с использованием нагревателя в кожухе (ф. "Со-го Рикагаку Гласс Ко") в потоке газообразного азота при пониженном давлении от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 4 часов при постоянном отводе водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3 - 30 мм рт.ст. от 150° до 185°C на период времени 23 часа, после чего смесь была охлаждена с образованием сополимера молочной и гликолевой кислот.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор влит в теплую воду с температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок был собран и высушен в вакууме при 30°C

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса полученного сополимера и гликолевой кислот, определенные методом геля-проникающей хроматографии, и его среднечисловой молекулярный вес, найденный методом концевых групп, соответственно составляют 10000, 4000 и 4000. Эти данные говорят о том, что сополимер является полимером, содержащим концевые карбоксильные группы.

Справочный пример 13

В бутыл с четырьмя горловинами емкостью 1000мл, снабженную трубой для подвода азота и конденсатором, было введено 347г 90% водного раствора D,L-молочной кислоты и 286г гликолевой кислоты, и содержимое бутылки нагревалось с использованием нагревателя в кожухе (ф. "Со-го Гикагаку Гласс Ко") при пониженном давлении в потоке газообразного азота от 100°C/500 мм рт.ст. до 150°C/30 мм рт.ст. в течение 5 часов при постоянном отводе водного дистиллята. Затем реакционная смесь была подвергнута дальнейшему нагреванию при пониженном давлении 3 - 30 мм рт.ст. от 150° до 185°C на период времени 23 часа, после чего смесь была охлаждена с образованием молочной и гликолевой кислот.

Этот полимер был растворен в 1000мл дихлорметана и раствор влит в теплую воду температурой 60°C при постоянном перемешивании. Полученный пастообразный полимерный осадок

был собран и высушен в вакууме при 30°C

Средневзвешенный и среднечисловой молекулярные веса полученного сополимера молочной и гликолевой кислот, определенные методом гель-проникающей хроматографии, и его среднечисловой молекулярный вес, найденный методом концевых групп, соответственно составляют 10000, 3700 и 3900. Эти данные свидетельствуют о том, что сополимер является полимером, содержащим концевые карбоксильные группы.

#### Пример 1

200мг ацетата пептида NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> (производства ф. "ТАП" и ниже кратко называемого физиологически активным пептидом А) было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 5, в 5,3г (4,0мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 17°C и влит в 1000мл 0,1% (по весу) водного раствора поливинилового спирта (EG-40, ф. "Ниппон Синтетик Кемикэл Индастри Ко. Лтд"), предварительно охлажденного до 10°C, и смесь эмульгировалась с использованием турбинной мешалки, работающей со скоростью 7000 об/мин, и таким образом была получена эмульсия типа "масло/вода". Эта эмульсия перемешивалась при комнатной температуре в течение 3 часов, чтобы обеспечить испарение дихлорметана. Масляная фаза была отверждена и собрана с использованием центрифуги (05PR-22 ф. "Хиташи, Лтд"), работающей со скоростью 2000 об/мин. Эти твердые частицы были диспергированы в дистиллированной воде и подвергнуты дополнительному центрифугированию для вымывания свободного лекарственного агента и других веществ. Собранные микрокапсулы были повторно диспергированы в небольшом количестве дистиллированной воды, после чего было введено 0,3г D-маннита и проведена сушка при температуре ниже точки замерзания с образованием порошка. Распределение частиц по размерам и содержание физиологически активного пептида А были соответственно 5-60мкм и 4,7% (по весу).

Таким же образом получали препараты нижеприведенных физиологически активных пептидов (1) и (2).

(1) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub>

(2) NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub>

#### Пример 2

200мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 5, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 2, в 6,7г (5,0мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и влит в 1000 мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 17°C, и смесь была подвергнута той же обработке, что и в примере 1, благодаря чему были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокап-

сулах соответственно составляло 5-65мкм и 0,5% (по весу).

#### Пример 3

200мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 5, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 3, в 6,7г (5,0мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и залит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 17°C, и смесь была подвергнута обработке, приведенной в примере 1, благодаря чему были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание в них физиологически активного пептида А соответственно составляли 10 - 60мкм и 4,8% (по весу).

#### Пример 4

200мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 5, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 4, в 6,7г (5,0мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и залит в 1000 мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, доведенного до температуры 17°C заранее, и смесь была подвергнута обработке в соответствии с примером 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание в них физиологически активного пептида А соответственно составляли 10 - 75мкм и 4,6% (по весу).

#### Пример 5

200мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 6, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 2, в 6,0г (4,5мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и залит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до 10°C, после чего смесь была обработана так же, как и в примере 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 5-60мкм и 4,9% (по весу).

#### Пример 6

200мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,8г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 7, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 2, в 6,0г (4,5мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и залит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно охлажденного до 17°C, после чего смесь была обработана так же, как и в примере 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида в микрокапсулах соответственно составляло 10-65мкм и 4,9% (по весу).

## Пример 7

400мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе смеси 50/50 (3,6г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 9, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 8, в 7,0г (5,3мл) дихлорметана. Этот раствор был охлажден до 17°C и залит в 1000 мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 17°C, после чего смесь была подвергнута такой же обработке, как и в примере 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 5-65мкм и 7,2% (по весу).

## Пример 8

240мг ацетата пептида NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys (AzaglyNic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> (ниже кратко называемого физиологически активным пептидом В), полученного в соответствии со справочным примером 2, было растворено в растворе смеси 50/50 (1,76г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 8, в 3,2г (2,4мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 18°C и залит в 400мл 0,1% раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 16°C, а затем смесь была подвергнута обработке в соответствии с примером 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида В в микрокапсулах соответственно составляло 5-70мкм и 10,3% (по весу).

## Пример 9

240мг ацетата пептида NAcD2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(AzaglyFur)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> (ниже кратко называемого физиологически активным пептидом С), полученного в соответствии со справочным примером 10, было растворено в растворе смеси 50/50 (1,76 г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 9, и полимолочной кислоты, полученной в соответствии со справочным примером 8, в 3,2г (2,4мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 18°C и влит в 400мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 16°C, и смесь была обработана в соответствии с примером 1, благодаря чему получили микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида С составляло 5-65 мкм и 10,9% (по весу).

## Пример 10

240мг ацетата пептида N-Tetrahydrofur-2-oyl-Gly-D2Nal-D4CIPhe-D3Pal-Ser-NMeTyr-DLys(Nic)-Leu-Lys(Nisp)-Pro-DAlaNH<sub>2</sub> (производство ф "ТАП", ниже кратко называемого физиологически активным пептидом D, FAB масс-спектрометрия m/e 1647 (M+H)) было растворено в растворе смеси 50/50 (1,76г) сополимера гликолевой и 2-оксимасляной кислот, полученного в соответствии со справочным примером 9, и полимолочной ки-

слоты, полученной в соответствии со справочным примером 8, в 3,2г (2,4мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 18°C и влит в 400мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 16°C, а смесь была подвергнута обработке в соответствии с примером 1, так что были получены микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида в микрокапсулах соответственно составляло 5 - 70мкм и 10,5% (по весу).

## Пример 11

200мг ацетата физиологически активного пептида А было введено и растворено в растворе сополимера молочной и гликолевой кислот (молочная кислота/гликолевая кислота = 75/25 (моль %), средневзвешенный молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 5000, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 2000, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп - 2200, изготовитель ф "Вако Пьюр Кемикэл" (партия 920729)) в 5,3г (4,0мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 17°C и влит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта (EG-40, "Ниппон Синтетик Кемикэл Ко, Лтд"), предварительно доведенного до температуры 16°C, а смесь эмульгировалась с использованием турбинной мешалки со скоростью вращения 7000об/мин с получением эмульсии типа "масло/вода". Эта эмульсия "масло/ вода" перемешивалась при комнатной температуре в течение 3 часов, чтобы обеспечить испарение дихлорметана. Масляная фаза была отверждена и собрана с использованием центрифуги (05PR-22, ф "Хитачи"), работающей со скоростью 2000 об/мин. Эти твердые частицы были повторно диспергированы в дистиллированной воде и еще раз центрифугированы с целью вымывания свободного лекарственного агента и т.п. Собранные микрокапсулы были еще раз диспергированы в небольшом количестве дистиллированной воды, после чего было введено 0,3г D-маннита и агент сушки при температуре ниже точки заморозания, в результате чего был получен порошок. Распределение размеров частиц физиологически активного пептида А и его содержание в микрокапсулах соответственно составляли 5-60 мкм и 4,7% (по весу).

Препарат пролонгированного высвобождения нижеприведенных пептидов (1) и (2) приготавливается таким же образом, как это описано выше.

(1) Ацетат физиологически активного пептида

В

(2) Ацетат физиологически активного пептида

С

## Пример 12

200мг ацетата физиологически активного пептида А было добавлено и растворено в растворе 3,8г сополимера молочной и гликолевой кислот (молочная кислота/гликолевая кислота = 75/25 (моль %), средневзвешенный молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 10000, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей

хроматографии = 4400, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп = 4300, производство ф "Вако Пьюр Кемикэл" (партия 880530)) в 6,7г (5,0мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 17°C и влит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 11°C. После этого с целью получения микрокапсул была повторена процедура примера 11. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 5-65мкм и 4,5% (по весу).

#### Пример 13

400мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе сополимера молочной и гликолевой кислот, полученного в соответствии со справочным примером 12, 3,6г в 8,0г (6,0мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 15°C и влит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 14°C. После этого с целью получения микрокапсул повторялась процедура, приведенная в примере 11. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 5-65мкм и 8,2% (по весу).

#### Пример 14

400мг ацетата физиологически активного пептида А было растворено в растворе сополимера молочной и гликолевой кислот, полученного в соответствии со справочным примером 13, всего 3,6г, в 8,0г (6,0мл) дихлорметана. Полученный раствор был охлажден до 15°C и залит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 15°C. После этого была осуществлена процедура, приведенная в примере 11, что позволило получить микрокапсулы. Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А соответственно составляли 5-65 мкм и 8,4% (по весу).

#### Пример 15

Ацетат лейпрорелина в количестве 400мг (изготовитель ф "Такеда Кемикэл Индастриз") был добавлен в раствор 3,6г вышеупомянутого сополимера молочной и гликолевой кислот, используемого в примере 12, в 8,0г (6,0мл) дихлорметана, так что был получен прозрачный однородный раствор. Указанный раствор был охлажден до 15°C и влит в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 15°C. После этого с целью получения микрокапсул была осуществлена процедура, описанная в примере 11.

#### Пример экспериментальной проверки 1

Около 30мг микрокапсул, полученных в соответствии с примером 1, было диспергировано в дисперсной среде (раствор 2,5мг карбоксиметилцеллюлозы, 0,5мг полисорбата 80 и 25мг маннита в дистиллированной воде) и дисперсия была введена подкожно в спину крыс-самцов SD в возрасте 10 недель с использованием иглы 22G (дозировка микрокапсул 60мг/кг). После введения препарата крысы умерщвлялись, из зоны инъекций извлека-

лись остатки микрокапсул и определялось количество физиологически активного пептида А в микрокапсулах. Результаты приведены в таблице 1.

#### Примеры экспериментальной проверки 2-6

Аналогично примеру экспериментальной проверки 1, определялось остаточное количество физиологически активного пептида А с использованием микрокапсул, полученных в соответствии с примерами 2-6. Результаты также приведены в таблице 1.

Таблица 1

	Остаток физиологически активного пептида А %							
	День 1	Не-де-ля 1	Не-де-ля 2	Не-де-ля 3	Не-де-ля 4	Не-де-ля 5	Не-де-ля 6	Не-де-ля 8
Экспериментальный пример 1	88,0	86,5	42,3	15,2				
Экспериментальный пример 2	92,8	76,5	62,6	48,7	38,6	26,5		
Экспериментальный пример 3	96,5	90,5	77,5	64,9	59,2	46,9	38,7	20,3
Экспериментальный пример 4	99,4	94,5	87,2	76,3	66,0	-	46,6	30,7
Экспериментальный пример 5	92,9	75,0	45,7	-	17,5			
Экспериментальный пример 6	92,3	61,3	33,5	6,4				

Как видно из таблицы 1, все микрокапсулы, соответствующие настоящему изобретению, характеризуются в основном постоянной скоростью высвобождения физиологически активного пептида и, кроме того, практически полным отсутствием первоначального всплеска.

В таблице 2 приведены модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды протекания высвобождения, подсчитанные методом отсечения отрезков на оси X-ов. Для их определения использовались процедуры, описанные в "Методах биологических испытаний" (автор Акира Сакума, "Токио Университи Пресс", 5 июня 1978 г., стр. 111).

Таблица 2

	средне- взвешен- ный моле- кулярный вес поли- молочной кислоты	модель линейной регрессии	коэффи- циент корреля- ции	пери- од высво- божде- ния (не- дели)
Экспери- менталь- ный пример 1	3000	остаток % = 95,4- (26,9 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,992)	3,5
Экспери- менталь- ный пример 2	5000	остаток % = 94,4- (14,2 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,975)	6,6
Экспери- менталь- ный пример 3	7500	остаток % = 98,4- (10,0 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,996)	9,8
Экспери- менталь- ный пример 4	9000	остаток % = 102,1-(8,9 x на число недель	( $R^2 =$ 0,995)	11,5

Из таблицы 2 видно, что путем изменения средневзвешенного молекулярного веса полимолочной кислоты, которая смешивается с сополимером гликолевой и 2-оксимасляной кислот, можно точно регулировать интервалы высвобождения в диапазоне где-то от 3,5 до 11,5 недель

В таблице 3 приведены модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и интервалы высвобождения, подсчитанные как отсеченные отрезки на оси X-ов. Эти характеристики определялись на основании данных, приведенных в таблице 1, с использованием тех же процедур, которые использовались при заполнении таблицы 2

Таблица 3

содержание в мо- лях гликолевой кислоты в сополи- мере гликолевой кислоты	модель линейной регрессии	коэф- фициент корре- ляции	периоды протекания высвобож- дения (неде- ли)
пример экспе- риментальной проверки 2	остаток % = 94,4- (14,2 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,975)	6,6
пример экспе- риментальной проверки 5	остаток % = 95,7- (20,6 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,996)	4,6
пример экспе- риментальной проверки 6	остаток % = 96,6- (30,9 x на число не- дель	( $R^2 =$ 0,994)	3,1

Из таблицы 3 видно, что путем изменения содержания в молях гликолевой кислоты в сополимере гликолевой и 2-оксимасляной кислот, который необходимо смешать с полимолочной кислотой, можно довольно тонко регулировать продолжительность высвобождения в диапазоне от где-то 3,1 недели до 6,6 недель

Примеры экспериментальной проверки от 7 до 9

Точно так же, как в примере экспериментальной проверки 1, определялось остаточное количество физиологически активного пептида в микрокапсулах, полученных в соответствии с примерами 7 - 9, за исключением того, что доза составляла 30мг/кг. Результаты приведены в таблице 4. В таблице 5 приведены модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, подсчитанные как отсеченные отрезки на оси X-ов. Эти характеристики определялись на основании данных, приведенных в таблице 4, с использованием тех же процедур, которые использовались в случае таблицы 2

Таблица 4

Остаток физиологического пептида (%)						
	Физиоло- гическая активность	1 день	1 не- де- ля	2 не- де- ля	3 не- де- ля	4 не- де- ля
пример экспе- риментальной проверки 7	A	99,3	74,5	51,4	33,2	24,1
пример экспе- риментальной проверки 8	B	87,4	75,0	52,3	32,8	25,1
пример экспе- риментальной проверки 9	C	89,4	73,6	54,9	37,7	23,4

Таблица 5

	физио- лог активный пептид	модель ли- нейной рег- рессии	коэффи- циент корреля- ции	период высво- божде- ния (неде- ли)
пример экспе- рименталь- ной про- верки 7	A	остаток % = 97,8-(20,1 x на число недель	( $R^2 =$ 0,975)	4,9
пример экспе- рименталь- ной про- верки 8	B	остаток % = 93,5-(18,6 x на число недель	( $R^2 =$ 0,971)	5,0
пример экспе- рименталь- ной про- верки 9	C	остаток % = 94,4-(18,5 x на число недель	( $R^2 =$ 0,987)	4,9

Из таблиц 4 и 5 видно, что соответствующие изобретению микрокапсулы характеризуются в основном постоянной скоростью высвобождения и фактически полным отсутствием первоначального выброса

Пример экспериментальной проверки 10

Как и в примере экспериментальной проверки 7, определялось остаточное количество физиологически активного пептида в микрокапсулах с использованием микрокапсул, полученных в соответствии с примером 10. Результаты приведены в таблице 6. В таблице 7 приведены модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды длительности высвобождения, подсчитанные как отсеченные отрезки на оси X-ов. Эти характеристики определялись на основании данных, приведенных в таблице 6 с использованием той же процедуры, что и в случае таблицы 2.

Таблица 6

	остаток физиологически активного пептида D (%)				
	1 день	неделя 1	неделя 2	неделя 3	неделя 4
пример экспериментальной проверки 10	93,5 ± 0,5	69,9 ± 3,6	37,3 ± 1,6	17,0 ± 1,4	7,9 ± 0,5

Таблица 7

	модель линейной регрессии	коэффициент корреляции	периоды протекания высвобождения (недели)
пример экспериментальной проверки 10	остаток % = 95,0 - (24,1 × на число недель)	(R <sup>2</sup> = 0,969)	3,9

Из таблиц 6 и 7 видно, что соответствующие изобретению микрокапсулы характеризуются в основном постоянной скоростью высвобождения физиологически активного пептида и практически полным отсутствием первоначального выброса.

Пример экспериментальной проверки 11

Около 30 мг микрокапсул, полученных в соответствии с примером 11, было диспергировано в 0,5 мл дисперсной среды (приготовлена путем растворения карбоксиметилцеллюлозы (2,5 мг), полисорбата 80 (0,5 мг) и маннита (25 мг) в дистиллированной воде), затем была осуществлена подкожная инъекция этой дисперсии в спину крыс SD в возрасте 10 недель с использованием иглы 22G (дозировка микрокапсул 60 мг/кг). После введения микрокапсул и определялось количество физиологически активного пептида А в микрокапсулах. Результаты приведены в таблице 8.

Пример экспериментальной проверки 12

Процедура, примененная в примере экспериментальной проверки 11, была в несколько измененном виде повторена с использованием микрокапсул, полученных в соответствии с примером 12, и был проведен анализ физиологически актив-

ного пептида А. Результаты приведены в таблице 8.

Пример экспериментальной проверки 13

Процедура, примененная в примере экспериментальной проверки 11, была в несколько измененном виде повторена с использованием микрокапсул, полученных в соответствии с примером 13, и был проведен анализ физиологически активного пептида А. Результаты приведены в таблице 8.

Пример экспериментальной проверки 14

Процедура, примененная в примере экспериментальной проверки 11, была повторена в несколько измененном виде с использованием микрокапсул, полученных в соответствии с примером 14, и был проведен анализ физиологически активного пептида А. Результаты приведены в таблице 8.

Таблица 8

	Остаток физиологически активного пептида А %						
	День	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 6	Неделя 8
Экспериментальный пример 11	82,8	21,8	-	-	-	-	-
Экспериментальный пример 12	96,7	91,7	79,5	69,2	59,2	-	22,8
Экспериментальный пример 13	100,0	84,3	43,9	31,9	-	-	-
Экспериментальный пример 14	96,3	67,5	38,0	23,5	-	-	-

(- не определяется)

В таблице 9 приведены модели линейной регрессии, коэффициенты корреляции и периоды высвобождения, подсчитанные как отсеченные отрезки на оси X-ов. Эти характеристики определялись на основании данных, приведенных в таблице 8, с использованием той же процедуры, которая использовалась в случае таблицы 2.

Таблица 9

содержание в молях гликолевой кислоты в сополимере гликолевой кислоты	модель линейной регрессии <sup>1</sup>	коэффициент корреляции	периоды протекания высвобождения (недели)
пример экспериментальной проверки 11	остаток % = 97,1 - (75,7 × на число недель)	(R <sup>2</sup> = 0,994)	1,3

Продолжение таблицы 9

содержание в молях гликолевой кислоты в сополимере гликолевой кислоты	модель линейной регрессии <sup>1</sup>	коэффициент корреляции	периоды протекания высвобождения (недели)
пример экспериментальной проверки 12	остаток % = 92,2-(9,7 х на число недель	(R <sup>2</sup> = 0,998)	10,3
пример экспериментальной проверки 13	остаток % = 102,4-(24,8 х на число недель	(R <sup>2</sup> = 0,982)	4,1
пример экспериментальной проверки 14	остаток % = 97,7-(26,5 х на число недель	(R <sup>2</sup> = 0,989)	3,7

Из таблиц 8 и 9 видно, что препарат пролонгированного высвобождения, соответствующий настоящему изобретению, неизменно обеспечивает в основном постоянную скорость высвобождения пептида в самые разные периоды времени

#### Пример для сравнения 1

400мг ацетата физиологически активного пептида А было введено в раствор 3,6г сополимера молочной и гликолевой кислот (молочная кислота / гликолевая кислота = 75/25 (моль %), средневзвешенный молекулярный вес, определенный методом концевых групп = 45000, (изготовитель ф "Берингер-Ингельхайм" (партия RG505-05077)) в 33,2г (25,0мл) дихлорметана, однако ацетат физиологически активного пептида А невозможно было эффективно растворить

#### Пример для сравнения 2

400мг ацетата физиологически активного пептида А было введено в раствор 3,6г сополимера молочной и гликолевой кислот (молочная кислота/ гликолевая кислота = 75/25 (моль %), средневзвешенный молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 18000, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 8400, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп = 30000, (ф "Берингер-Ингельхайм" (партия RG752-15057)), в 8,0г (6,0мл) дихлорметана, однако физиологически активный пептид А невозможно было эффективно растворить Эта дисперсия была охлаждена до 17°C и залита в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 15°C, с получением микрокапсул точно таким же способом, как и в случае примера 11 Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 10-90мкм и 2,5% (по весу)

#### Пример для сравнения 3

400мг ацетата физиологически активного пептида А было введено в раствор 3,6г сополимера молочной и гликолевой кислот (молочная кислота / гликолевая кислота = 75/25 (моль %), средневзвешенный молекулярный вес, определенный методом гель-проникающей хроматографии = 58000, среднечисловой молекулярный вес, определенный методом концевых групп = 53000, (ф "Берингер-Ингельхайм" (партия RG755-05019)), в 21,2г (16,0мл) дихлорметана, однако физиологически активный пептид А невозможно было эффективно растворить Эта дисперсия была охлаждена до 17°C и залита в 1000мл 0,1% водного раствора поливинилового спирта, предварительно доведенного до температуры 16°C, с получением микрокапсул точно таким же способом, как и в случае примера 2 Распределение размеров частиц и содержание физиологически активного пептида А в микрокапсулах соответственно составляли 10 - 90мкм и 3,6% (по весу)

Как видно из примеров для сравнения 1-3, в случае использования сополимера молочной и гликолевой кислот, у которого практически нет концевых карбоксильных групп, пептид (I), соответствующий настоящему изобретению, не может быть эффективно растворен

#### Пример для сравнения 4

400мг ацетата лейпролорелина (изготовитель ф "Такеда Кемикал Индастриз") было введено в раствор 3,6г того же самого сополимера молочной и гликолевой кислот, что использовался в примере для сравнения 2, в 8,0г (6,0мл) дихлорметана, однако ацетат лейпролорелина было невозможно эффективно растворить

Препарат пролонгированного высвобождения, соответствующий настоящему изобретению, характеризуется постоянной скоростью высвобождения лекарственного агента, в частности пептида (I) в течение продолжительного периода времени и таким образом способствует длительному и устойчивому эффекту Более того, высвобождение лекарственного средства можно легко контролировать, подавляя его чрезмерный выброс сразу же после введения препарата В частности, подавляется эффект высвобождения гистамина сразу же вслед за введением пептида (I) в указанном препарате пролонгированного высвобождения Данный препарат пролонгированного высвобождения характеризуется превосходной диспергируемостью Более того, препарат устойчив (например, к воздействию света, тепла, влажности, краски) и малотоксичен, поэтому его применение вполне безопасно

В соответствии со способом получения по настоящему изобретению препарат пролонгированного высвобождения можно легко получить при хорошей производительности Полученный таким образом препарат пролонгированного высвобождения имеет гладкую поверхность и характеризуется превосходной подвижностью

