

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036213**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.10.14

(21) Номер заявки
201391675

(22) Дата подачи заявки
2012.05.25

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/14 (2006.01)
A61K 47/24 (2006.01)

(54) ПЕПТИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ С КОНТРОЛИРУЕМЫМ ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ

(31) **61/489,886**

(32) **2011.05.25**

(33) **US**

(43) **2014.08.29**

(86) **PCT/EP2012/059917**

(87) **WO 2012/160213 2012.11.29**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КАМУРУС АБ (SE)

(72) Изобретатель:
**Тиберг Фредрик, Нистор Каталин,
Йонссон Маркус (SE)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В. (RU)**

(56) **WO-A1-2006131730
WO-A1-2006075124
US-A1-2009155193
WO-A1-2009024795**

(57) Изобретение относится к композициям-предшественникам, образующим маловязкую смесь: (а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола; (б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (РС); (в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя; (г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя; (д) по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1), где композиция-предшественник имеет вязкость 1-1000 мПа·с при 20°C; где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46; где композиция-предшественник способна образовывать по меньшей мере одну жидкокристаллическую фазовую структуру при контакте с избытком водной жидкости. Изобретение также относится к изготовлению таких композиций, способам лечения, включающим введение таких композиций, и к предварительно заполненным устройствам, содержащим такие композиции.

B1**036213****036213****B1**

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям-предшественникам (прекомпозициям) для образования композиций для контролируемого высвобождения пептидных активных агентов *in situ* и способам лечения с помощью таких композиций. В частности, изобретение относится к композициям-предшественникам с высоким содержанием амфифильных компонентов и по меньшей мере одного пептидного активного агента для парентерального применения, которые претерпевают фазовый переход при контакте с водными жидкостями, такими как биологические жидкости, образуя посредством этого композицию с контролируемым высвобождением.

Предшествующий уровень техники

Многие биологически активные агенты, включая лекарственные средства, питательные вещества, витамины и т.д., имеют "функциональное окно". То есть существует интервал концентраций, в котором можно наблюдать, что эти агенты обеспечивают некоторый биологический эффект. Когда концентрация в соответствующей части тела (например, местно или как это демонстрирует концентрация в сыворотке) падает ниже определенного уровня, данному агенту не может быть приписан полезный эффект. Аналогично, обычно существует верхний уровень концентрации, выше которого при увеличении концентрации не получают дополнительной пользы. В некоторых случаях увеличение концентрации выше конкретного уровня приводит к нежелательным или даже опасным эффектам.

Некоторые биологически активные агенты имеют длительный период биологического полувыведения и/или широкое функциональное окно и, таким образом, их можно вводить периодически, поддерживая функциональную биологическую концентрацию на протяжении значительного промежутка времени (например, от 6 ч до нескольких суток). В других случаях скорость клиренса является высокой и/или функциональное окно является узким и, таким образом, для того, чтобы поддерживать биологическую концентрацию в рамках этого окна, требуются регулярные (или даже непрерывные) дозы малых количеств. Это может быть особенно затруднительным, когда желательными являются пероральные пути введения (например, парентеральное введение). Кроме того, в некоторых случаях, таких как подборка имплантов (например, заместителей суставов или пероральных имплантов), область желательного действия может оставаться недоступной для повторного введения. В таких случаях одиночное введение должно обеспечивать терапевтический уровень активного агента на протяжении всего промежутка времени, когда требуется эта активность.

Существует огромный потенциал для применения пептидов (в том числе белков) для лечения различных болезненных состояний, а также профилактики и улучшения общего состояния здоровья и самочувствия субъектов. Тем не менее, эффективность вводимых пептидных агентов обычно ограничена вследствие их низкой биодоступности, в свою очередь обусловленной быстрой деградацией пептидов и белков в биологических жидкостях. Это обстоятельство повышает дозу, которую необходимо вводить, и во многих случаях ограничивает эффективные пути введения. Указанные явления часто усугубляются за счет ограниченного проникновения пептидов и белков через биологические мембраны.

Пептиды и белки, вводимые в организм млекопитающего (например, перорально, внутримышечно и т.д.), подвержены разрушению различными протеолитическими ферментами и системами, присутствующими в организме. Хорошо известные места пептидазной активности включают в себя желудок (например, пепсин) и кишечный тракт (например, трипсин, химотрипсин и другие), однако другие пептидазы (например, аминопептидазы, карбоксипептидазы и т.д.) обнаружены во всем организме. При пероральном введении желудочная и кишечная деградация уменьшает количество пептида или белка, которое потенциально могло бы всосаться через поверхностную выстилку кишечника, и таким образом снижает их биодоступность. Сходным образом, свободные пептиды и белки в кровотоке млекопитающих также подвержены ферментативной деградации (например, протеазами плазмы крови и т.д.).

Некоторым пациентам, проходящим лечение, обычно будет необходимо поддержание терапевтической дозы в течение длительного периода и/или продолжение лечения в течение многих месяцев или лет. Таким образом, депо-система, обеспечивающая загрузку и контролируемое высвобождение большей дозы на протяжении более длительного периода времени, обеспечила бы существенное преимущество, по сравнению с обычными системами доставки.

Доставку пептидов можно проводить такими системами, как система доставки Alkermes Medisorb®, состоящая из микросфер биodeградируемых полимеров. Такие композиции с полимерными микросферами обычно необходимо вводить большой иглой, обычно 20-го размера или более. Эта необходимость обусловлена природой используемых полимерных систем введения, обычно представляющих собой суспензии полимеров.

Очевидно, было бы предпочтительным обеспечить систему с малой вязкостью, такую как гомогенный раствор, дисперсия мелких частиц или L₂-фаза, которую можно было бы легко вводить через тонкую иглу, уменьшая, таким образом, дискомфорт для пациента во время процедуры. Эта простота введения особенно важна в случаях, когда пациенты будут проводить введение самостоятельно и могут уже проводить введения самостоятельно несколько раз в сутки. Обеспечение композиции с длительным высвобождением продолжительностью несколько суток, но настолько сложной для введения, что для этого будет необходимо участие медицинского персонала, не будет преимуществом для всех пациентов, про-

водящих введение самостоятельно более двух или одного раза в сутки, и, вероятно, будет более дорогостоящим. Важно обеспечение композиции, которая имеет длительное высвобождение, для оправдания визита к медицинскому работнику для введения, и/или препарата, который можно вводить самостоятельно, и уменьшение времени подготовки медицинского персонала или пациентов перед фактическим введением.

Полилактат, полигликолят и сополимеры лактат-гликолят, обычно используемые для деградируемых композиций с медленным высвобождением, также являются причиной некоторых болезненных раздражений по меньшей мере у некоторых пациентов. В частности, эти полимеры обычно содержат определенное количество примеси уксусной кислоты, которая будет раздражать место инъекции при введении. При распаде полимера продуктами распада являются молочная и гликолевая кислоты, также вызывающие раздражение. Результатом комбинированных эффектов введения толстой иглой и раздражающего содержимого является нежелательно сильный дискомфорт в месте введения и излишнее образование рубцовой соединительной ткани.

С точки зрения доставки лекарственного средства, недостатком полимерных депо-композиций также является возможность только относительно низких нагрузок лекарства и наличие профиля высвобождения "взрыв/задержка". Природа полимерной матрицы, особенно когда ее применяют в виде раствора предполимера, вызывает начальный взрыв высвобождения лекарственного средства при первом введении композиции. После этого следует период медленного высвобождения, по мере того как начинается разрушение матрицы, с последующим в конце увеличением скорости высвобождения до желательного замедленного профиля. Такой профиль высвобождения с взрывом/задержкой может приводить к тому, что до достижения поддерживаемой функциональной концентрации концентрация активного агента *in vivo* непосредственно после введения "взрывается" до значений выше функционального окна, затем на протяжении лаг-периода понижается до значений ниже нижнего значения функционального окна. С функциональной и токсикологической точек зрения очевидно, что такой профиль высвобождения с взрывом/задержкой является нежелательным и может быть опасным. Он также может ограничивать равновесную концентрацию, которую можно обеспечить, из-за угрозы побочных эффектов в точке "пика". Он может также ограничивать равновесную концентрацию, которая может быть обеспечена, ввиду опасности нежелательных эффектов в точке "пика". Кроме того, наличие фазы задержки может приводить к необходимости дополнительного введения с повторными инъекциями в течение начального периода депо-лечения для поддержания терапевтической дозы, когда концентрации активного агента, обеспечиваемые депо, ниже функциональных. В частности, для определенных полипептидов было бы предпочтительным минимизировать немедленный "взрывной" эффект при введении композиции во избежание побочных эффектов, таких как гипогликемия.

Одним классом пептидных гормонов, для которого особенно предпочтительны очень "слабый взрыв" и стабильная концентрация *in vivo*, являются аналоги соматостатина. Исследования *in vivo* показывают, что для этих пептидов особенно предпочтительно поддержание постоянной концентрации в плазме. Это показывает не только, что депо-композиция позволила бы полезным образом избежать "пиков" концентрации при введении и/или повторном введении в течение суток, но также, что такая депо-композиция должна иметь как можно более равномерный профиль высвобождения на протяжении терапевтического периода.

Композиции с контролируемым высвобождением обычно изготавливают из биосовместимых полимеров в форме, например, имплантатов или инъектируемых гранул. Композиции с полимерными микросферами обычно необходимо вводить большой иглой, обычно 20-го размера или более. Эта необходимость обусловлена природой используемых полимерных систем введения, обычно представляющих собой суспензии полимеров. Было бы предпочтительным обеспечить систему с малой вязкостью, такую как гомогенный раствор, дисперсия мелких частиц или L_2 -фаза, которую можно было бы легко вводить через тонкую иглу, уменьшая, таким образом, дискомфорт для пациента во время процедуры. В случае пациентов с диабетом, при дневном или ночном применении, эта простота введения особенно важна, поскольку большинство пациентов часто будут проводить введение самостоятельно. Обеспечение композиции с длительным высвобождением, позволяющей предотвратить или снизить риск гипогликемии (особенно ночной гипогликемии), но настолько сложной для введения, что для ее введения будет необходимо участие медицинского персонала, вероятно, не приведет к успеху, ввиду слишком существенного нарушения образа жизни и слишком больших финансовых затрат, связанных с таким сложным введением. Для таких ситуаций крайне необходимо обеспечение композиции, позволяющей проводить введение самостоятельно и достаточно простой и безболезненной при введении, не оказывающей отрицательного влияния на приверженность пациента к лечению.

Кроме того, получение микрогранул и суспензий PLGA (сополимер лактат-гликолят) представляет существенные трудности в случае определенных существующих депо-систем. В частности, поскольку гранулы имеют форму частиц, а полимеры приводят к засорению мембран, их обычно нельзя стерилизовать фильтрацией, и, кроме того, поскольку сополимер PLGA имеет температуру плавления приблизительно 40°C, их стерилизация температурной обработкой невозможна. В результате, весь сложный производственный процесс необходимо проводить в условиях высокой стерильности.

Другие проблемы, связанные с микросферами из биodeградируемых полимеров, включают сложное восстановление перед инъекцией и ограниченную стабильность при хранении ввиду агрегации и деградации системы доставки и/или активного агента.

Липидная композиция с медленным высвобождением для GLP-1 и его аналогов описана в WO 2006/131730. Это высокоэффективная композиция, но концентрация активного агента, который может быть включен в композицию, ограничена его растворимостью. Очевидно, более высокая концентрация активного агента обеспечивает возможность изготовления депо-продуктов с более длительным высвобождением, продуктов, поддерживающих более высокую системную концентрацию, и продуктов, имеющих меньший инъецируемый объем, все эти факторы являются существенным преимуществом при соответствующих обстоятельствах. Поэтому было бы весьма полезным разработать способ включения более высоких концентраций активных агентов в липидную депо-композицию.

Авторы настоящего изобретения установили, что обеспечение прекомпозиции, содержащей по меньшей мере один нейтральный диацилглицерин и/или токоферол, по меньшей мере один фосфатидилхолин, по меньшей мере один биосовместимый органический моно-спиртовой растворитель, по меньшей мере один полярный растворитель, по меньшей мере один пептидный активный агент и, возможно, по меньшей мере один антиоксидант в маловязкой фазе, такой как молекулярный раствор или L₂(обращенная мицеллярная)-фаза, позволяет изготовить прекомпозицию, лишенную многих недостатков известных депо-композиций, которая может быть применена для обеспечения контролируемого высвобождения пептидного активного агента. Использование определенных компонентов в тщательно подобранных соотношениях и, в частности, в смеси со спиртом и полярным растворителем, позволяет изготовить депо-композицию, обладающую сочетанием свойств, превосходящим эффективность уже известных липидных композиций с контролируемым высвобождением.

В частности, прекомпозиция демонстрирует крайне предпочтительный профиль высвобождения, проста в изготовлении, может быть стерилизована фильтрацией, имеет малую вязкость (что позволяет проводить введение просто и менее болезненно, обычно через тонкую иглу), обеспечивает высокий уровень включения биологически активного агента (таким образом, потенциально обеспечивая уменьшение используемого количества композиции и/или активного агента), требует неглубокой инъекции и/или образует желаемую неламеллярную депо-композицию *in vivo*, имеющую "невзрывной" профиль высвобождения. Композиции также изготавливают из нетоксичных, биологически переносимых и биodeградируемых веществ, их можно вводить внутримышечно или подкожно, и они являются подходящими для самостоятельного введения. Прекомпозиция также может иметь очень низкий уровень раздражения при инъекции и в предпочтительных случаях не вызывает раздражения в месте инъекции (включая кратковременное раздражение).

Определенные композиции по настоящему изобретению образуют неламеллярную жидкокристаллическую фазу после введения. Применение неламеллярных фазовых структур (таких как жидкокристаллические фазы) в доставке биологически активных агентов в настоящее время относительно широко распространено. Наиболее эффективная липидная депо-система описана в WO 2005/117830, а также в настоящем документе описано крайне предпочтительное липидное депо. Тем не менее, в некоторых аспектах сохраняется возможность изготовления депо-композиций с улучшенной эффективностью.

Преимущества композиций по настоящему изобретению над полимерными композициями, такими как PLGA-сферы, включают простоту изготовления (включая стерилизацию), свойства в обращении и использовании в сочетании со слабым начальным высвобождением ("невзрывной профиль") активного агента. Это может быть определено таким образом, что площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени за первые 24 ч периода введения продолжительностью один месяц составляет менее 20% от общей площади под кривой (измеренной или экстраполированной от момента времени 0 до бесконечности или от момента времени 0 до момента получения последнего образца), более предпочтительно менее 15% и наиболее предпочтительно менее 10%. Это особенно применимо к ацилсахаридным и липидным аспектам изобретения и обсуждено более подробно в WO 2005/117830. Кроме того, это может быть определено так, что максимальная концентрация активного агента в плазме *in vivo* после инъекции предварительной композиции (C_{max}) превышает среднюю концентрацию в плазме за терапевтический период (C_{ave}) не более чем в 10 раз, предпочтительно не более чем в 8 раз и наиболее предпочтительно не более чем в 5 раз.

Краткое изложение сущности изобретения

Согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая подходящую комбинацию липидных эксципиентов, органического спиртового растворителя, полярного растворителя, пептидного активного агента и некоторых необязательных компонентов, которая может быть использована в качестве депо-композиции-предшественника (называемой здесь для краткости прекомпозицией) для удовлетворения одной или более из потребностей, описанных выше.

Таким образом, в первом аспекте согласно изобретению предложена композиция-предшественник (прекомпозиция), содержащая маловязкую смесь:

- а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;
- б) 20-80% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);

в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;

г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;

д) по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);

где композиция-предшественник имеет вязкость 1-1000 мПа·с при 20°C;

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;

композиция-предшественник способна образовывать по меньшей мере одну жидкокристаллическую фазовую структуру при контакте с избытком водной жидкости.

Предпочтительно указанный активный агент представляет собой пептидный активный агент, являющийся аналогом соматостатина.

Предпочтительно композиция-предшественник содержит 1,8% (мас.) или более указанного по меньшей мере одного пептидного активного агента.

Предпочтительно компонент (г) представляет собой пропиленгликоль.

Предпочтительно компонент (г) содержит смесь пропиленгликоля и по меньшей мере 2% воды.

Предпочтительно компонент (а) содержит диолеат глицерина (GDO). Предпочтительно компонент (б) содержит соевый РС.

Предпочтительно компонент (в) содержит этанол, пропанол, изопропанол или их смеси.

Более предпочтительно компонент (в) представляет собой этанол.

Предпочтительно пептидный активный агент содержит по меньшей мере один аналог соматостатина, выбранный из соматостатина-14, соматостатина-28, октреотида, ланреотида, пасиреотида и вапреотида.

Более предпочтительно пептидный активный агент представляет собой октреотид.

Предпочтительно композиция-предшественник по изобретению не содержит полиэтиленоксидов.

Предпочтительно композиция-предшественник по изобретению не содержит полиэтиленоксида Р80.

Предпочтительно компонент (в) присутствует в количестве 5-20% (мас.). Более предпочтительно, где компонент (в) присутствует в количестве 5-18% (мас.). Более предпочтительно компонент (в) присутствует в количестве 5-16% (мас.). Более предпочтительно компонент (в) присутствует в количестве 8-15% (мас.). Предпочтительно компонент (г) присутствует в количестве от 5 до 20% (мас.). Более предпочтительно компонент (г) присутствует в количестве от 5 до 18% (мас.). Более предпочтительно компонент (г) присутствует в количестве от 5 до 15% (мас.). Более предпочтительно компонент (г) присутствует в количестве от 8 до 15% (мас.).

Предпочтительно соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 45:55 до 54:46.

Предпочтительно соотношение компонентов (в):(г) находится в диапазоне от 40:60 до 70:30.

Предпочтительно композиция-предшественник по изобретению имеет обращенную мицеллярную (L₂)-фазовую структуру.

Предпочтительно композиция-предшественник по изобретению содержит:

а) 36-44% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 36-44% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (РС);

в) 3-18% (мас.) этанола;

г) 5-18% (мас.) пропиленгликоля;

д) 1-3% (мас.) пептидного активного агента, представляющего собой аналог соматостатина;

при этом композиция-предшественник имеет вязкость 1-1000 мПа·с при 20°C;

при этом соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;

при этом композиция-предшественник способна образовывать по меньшей мере одну жидкокристаллическую фазовую структуру при контакте с избытком водной жидкости.

Более предпочтительно пептидный активный агент, представляющий собой аналог соматостатина, является октреотидом.

В другом аспекте согласно изобретению предложен способ изготовления композиции-предшественника, подходящей для введения пептидного биологически активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1), субъекту млекопитающему, включающий получение маловязкой смеси:

а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (РС);

в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;

г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;

и растворение или диспергирование по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1), в маловязкой смеси или по меньшей мере в одном из компонентов (а), (б), (в) и (г) перед получением маловязкой смеси;

где изготавливаемая композиция-предшественник представляет собой композицию-предшественник согласно первому аспекту изобретения.

В предпочтительном воплощении указанный пептидный активный агент представляет собой аналог соматостатина.

В предпочтительном воплощении изготавливаемая композиция-предшественник содержит компонент (в) в количестве 5-20% (мас.).

В еще одном аспекте согласно изобретению предложено применение смеси:

а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (РС);

в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;

г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;

д) по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46 в изготовлении композиции-предшественника согласно первому аспекту изобретения для использования в длительном введении указанного пептидного активного агента.

В еще одном аспекте согласно изобретению предложен способ лечения субъекта человека или субъекта млекопитающего, не являющегося человеком, нуждающегося в этом, для борьбы по меньшей мере с одним состоянием, выбранным из акромегалии, злокачественных новообразований, карцином, меланом, опухолей, экспрессирующих по меньшей мере один рецептор соматостатина, sst(2)-положительных опухолей, sst(5)-положительных опухолей, видов рака предстательной железы, гастроэнтеропанкреатических нейроэндокринных (GEP NE) опухолей, карциноидных опухолей, инсулином, гастрином, опухолей, продуцирующих вазоактивный интестинальный пептид (VIP), и глюкагоном, повышенного уровня гормона роста (GH), повышенного уровня инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I), кровотечения из варикозно расширенных вен (особенно вен пищевода), желудочно-кишечных проблем, вызванных химиотерапией (таких как диарея), лимфореи, диабетической ретинопатии, тиреотоксической офтальмопатии, ожирения, панкреатита и родственных состояний, включающий введение указанному субъекту композиции-предшественника согласно первому аспекту изобретения.

В еще одном аспекте согласно изобретению предложено предварительно заполненное устройство для введения, содержащее шприц, имеющий шприцевой цилиндр, который содержит композицию-предшественник согласно первому аспекту изобретения.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1а. IVR (in vitro высвобождение)-профиль композиций 911-918.

Фиг. 1б. IVR-профиль композиций 1006, 1007 и 1010.

Фиг. 2. Содержание и степень чистоты пептида (выраженные как % соответствующих значений, полученных для контрольных образцов, хранимых при $<-15^{\circ}\text{C}$) после хранения композиций G и H в течение 7 суток при 70°C .

Фиг. 3. PK-11-413, нормализация по дозе.

Фиг. 4. PK-11-425, зависимость концентрации леупролида в плазме крови от времени в течение 21 суток для композиций 49 и 50.

Подробное описание изобретения

Композиции по настоящему изобретению образуют неламеллярную жидкокристаллическую фазу после введения. Применение неламеллярных фазовых структур (таких как жидкокристаллические фазы) в доставке биологически активных агентов в настоящее время относительно широко распространено. Наиболее эффективная липидная депо-система описана в WO 2005/117830, и подходящая липидная матрица для применения в настоящем изобретении описана в настоящем документе, полное описание которого включено таким образом посредством ссылки. Для ознакомления с описанием наиболее предпочтительных фазовых структур таких композиций следует обратить внимание на обсуждение в WO 2005/117830, в частности на с. 29.

По всему описанию все % указаны по массе, если не указано иное. Кроме того, указанный % по массе представляет собой % всей прекомпозиции, содержащей все компоненты, указанные здесь. Прекомпозиции могут, возможно, состоять по существу только из компонентов, указанных здесь (включая, по необходимости, дополнительные необязательные компоненты, указанные здесь ниже и в приложенной формуле изобретения) и в одном аспекте состоят полностью из таких компонентов.

Липидные системы, описанные здесь, содержат липидные компоненты (а) и (б) с компонентами органического моно-спиртового растворителя (в), полярного растворителя (г) и пептидного активного агента (д).

Предпочтительно прекомпозиция по изобретению имеет L₂-фазовую структуру. Предпочтительно прекомпозиция образует неламеллярную (например, жидкокристаллическую) фазу после введения.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что подходящий выбор типов, абсолютных количеств и соотношений липидных компонентов, а также пептидного активного агента и по меньшей мере двух растворителей, включая спирт и по меньшей мере один полярный растворитель, позволяет существенно улучшить свойства высвобождения депо-композиций, образуемых из прекомпозиций по изобретению. В частности, использование смеси спирта и полярного растворителя (особенно в соотношениях, близких к 1:1, описанных здесь) позволяет сохранить полезные эффекты спиртового растворителя на профиль высвобождения, в то время как другие свойства, такие как комфортность при введении и/или вязкость композиции, могут быть улучшены. В качестве альтернативы или в дополнение к этому, профиль высвобождения активного агента может стать существенно более равномерным, при этом максимальная концентрация в плазме *in vivo* будет лишь незначительно превышать среднюю или даже минимальную концентрацию за период введения. Такие преимущества имеют место даже в сравнении с другими липидными депо-композициями, которые сами по себе обеспечивают недостижимые ранее стандарты контролируемого высвобождения.

Это важно, в частности, при использовании определенных пептидных активных агентов, таких как аналоги соматостатина, для контроля пиковой концентрации (C_{max}) лекарственного средства в плазме на уровне равном или ниже переносимого субъектом уровня, например, во избежание побочных эффектов, таких как покраснение кожи или сильная тошнота, при обеспечении или достижении терапевтически эффективного уровня на протяжении желаемого периода высвобождения. Обычно средняя концентрация за период высвобождения перед введением следующей дозы, C_{ave}, находится в терапевтическом диапазоне. Контроль максимальной (C_{max}) и минимальной (C_{min}) концентраций также важен для обеспечения желаемого лечения с течением времени. В одном воплощении начальный взрыв не является C_{max} профиля высвобождения.

Вне зависимости от того, является ли начальный взрыв также и C_{max}, предпочтительное соотношение C_{max}/C_{ave} составляет менее 50, предпочтительно менее или равно 15, более предпочтительно менее или равно 10, еще более предпочтительно менее или равно 5. Кроме того, предпочтительно соотношение C_{ave}/C_{min} составляет не более 50, предпочтительно менее или равно 15, более предпочтительно менее или равно 10, еще более предпочтительно менее или равно 5. C_{max} определяют, как известно в данной области техники, как пиковую или максимальную концентрацию в плазме, наблюдаемую за период высвобождения перед введением следующей дозы и C_{ave} определяют как среднюю концентрацию в плазме за этот период высвобождения. Соответственно, C_{min} определяют как минимальную концентрацию за этот период. C_{ave} может быть вычислена определением количества лекарственного средства, присутствующего в плазме, как площади под кривой (AUC) за выбранный период времени, обычно за весь период высвобождения перед введением следующей дозы и его делением на данный период времени.

Компонент (а) - диацилглицерин.

Предпочтительные диапазоны для компонента (а) составляют 33-60% (например, 43-60%), в частности от 38 до 43%. Предпочтительные диапазоны для компонента (б) составляют 33-55% (например, 35-55%), в частности от 38 до 43%.

Соотношения (а):(б) составляют 40:60 до 54:46. Соотношения приблизительно 50:50 (предпочтительно ± 2) являются высокоэффективными.

Компонент (а), как указано здесь, предпочтительно представляет собой по меньшей мере один диацилглицерин (DAG) и, таким образом, имеет две неполярные "хвостовые" группы. Две неполярные группы могут иметь одинаковое или разное число атомов углерода, и каждая из них может независимо быть насыщенной или ненасыщенной. Примеры неполярных групп включают C₆-C₃₂-алкильные и алкенильные группы, обычно присутствующие в форме эфиров длинноцепочечных карбоновых кислот. Их часто описывают, указывая число атомов углерода и число ненасыщенных связей в углеродной цепи. Таким образом, CX:Z указывает на углеродную цепь, имеющую X атомов углерода и Z ненасыщенных связей. В частности, примеры включают лауроильные (C12:0), миристоильные (C14:0), пальмитоильные (C16:0), фитаноильные (C16:0), пальмитолеильные (C16:1), стеароильные (C18:0), олеоильные (C18:1), элаидоильные (C18:1), линолеоильные (C18:2), линоленоильные (C18:3), арахидоноильные (C20:4), бегеноильные (C22:0) и лигноцериоильные (C24:9) группы. Таким образом, типичные неполярные цепи основаны на жирных кислотах природных эфирных липидов, включая капроновую, каприловую, каприновую, лауриновую, миристиновую, пальмитиновую, фитановую, пальмитоловую, стеариновую, олеиновую, элаидиновую, линолевую, линоленовую, арахидоновую, бегеновую или лигноцерионовую кислоты или соответствующие спирты. Предпочтительными неполярными цепями являются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и линоленовая кислоты, в частности олеиновая кислота.

В качестве компонента (а) могут быть использованы смеси любого числа диациллипидов. Предпочтительно этот компонент будет содержать по меньшей мере часть C18 липидов (например, DAG, имеющий одну или более C18:0, C18:1, C18:2 или C18:3 неполярных групп), такой как диолеат глицерина (GDO) и/или дилинолеат глицерина (GDL). Особенно предпочтительным примером является DAG, содержащий по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 80% и даже содержащий по суще-

ству 100% GDO.

Поскольку GDO и другие диацилглицерины представляют собой продукты, происходящие от природных источников, обычно присутствует определенная доля "примесного" липида, имеющего цепи другой длины и так далее. Таким образом, в одном аспекте при использовании здесь GDO использован для обозначения любого коммерческого сорта GDO с сопутствующими примесями (то есть, GDO степени очистки для коммерческого использования). Эти примеси могут быть отделены и удалены очисткой, но при условии соблюдения степени очистки в этом обычно нет необходимости. Тем не менее, по необходимости, "GDO" представляет собой по существу химически чистый GDO, такой как по меньшей мере на 80% чистый, предпочтительно по меньшей мере на 85% чистый и более предпочтительно по меньшей мере на 90% чистый GDO.

Компонент (б) - фосфатидилхолин.

Компонент (б) в предпочтительных липидных матрицах по настоящему изобретению представляет собой по меньшей мере один фосфатидилхолин (PC). Как и компонент (а), данный компонент содержит полярную головную группу и по меньшей мере одну неполярную хвостовую группу. Различие между компонентами (а) и (б) состоит главным образом в полярной группе. Таким образом, неполярные части могут соответствующим образом иметь происхождение от жирных кислот или соответствующих спиртов, рассмотренных выше для компонента (а). Как и в случае компонента (а), PC будет содержать две неполярные группы. Снова, C18 группы являются предпочтительными, и их можно комбинировать с любой другой подходящей неполярной группой, особенно C16 группами.

Фосфатидилхолиновая часть, даже более подходящим образом, чем любая диацилглицериновая часть, может происходить от природного источника. Подходящие источники фосфолипидов включают яйцо, сердце (например, коровье), мозг, печень (например, коровью) и растительные источники, включая сою. Такие источники могут обеспечить одну или более чем одну составную часть компонента (б), который может содержать любую смесь фосфолипидов. Может быть использован любой отдельный PC или смесь PC из этих или других источников, но особенно подходящими являются смеси, содержащие соевый PC или яичный PC. PC-компонент предпочтительно содержит по меньшей мере 50% соевого PC или яичного PC, более предпочтительно по меньшей мере 75% соевого PC или яичного PC и наиболее предпочтительно по существу чистый PC или яичный PC.

В одном воплощении, применимом ко всем аспектам изобретения, компонент (б) содержит PC. Предпочтительно PC имеет происхождение от сои. Предпочтительно PC содержит 18:2 жирные кислоты в качестве первичного жирнокислотного компонента и 16:0 и/или 18:1 в качестве вторичных жирнокислотных компонентов. Они обычно присутствуют в PC в соотношении от 1.5:1 до 6:1. PC, имеющий приблизительно 60-65% 18:2, от 10 до 20% 16:0, 5-15% 18:1, оставшаяся часть которого представлена преимущественно другими 16-углеродными и 18-углеродными жирными кислотами, предпочтителен и является типичным соевым PC.

В альтернативном, но в равной степени предпочтительном воплощении, PC-компонент может содержать синтетический диолеил-PC. Полагают, что это обеспечивает повышенную стабильность и поэтому будет особенно предпочтительно для композиций, которые должны быть стабильными при длительном хранении и/или имеют длительный период высвобождения *in vivo*. В данном воплощении PC-компонент предпочтительно содержит по меньшей мере 50% синтетического диолеил-PC, более предпочтительно по меньшей мере 75% синтетического диолеил-PC и наиболее предпочтительно по существу чистый синтетический диолеил-PC. Любой остальной PC предпочтительно представляет собой соевый или яичный PC, как описано выше.

Поскольку прекомпозиции по изобретению предназначены для введения субъекту для контролируемого высвобождения пептидного активного агента, важно, чтобы компоненты были биосовместимыми. В связи с этим, предпочтительные липидные матрицы для использования в прекомпозициях по настоящему изобретению обладают существенными преимуществами, поскольку как PC, так и DAG, хорошо переносятся и распадаются *in vivo* на компоненты, естественным образом присутствующие в организме млекопитающих.

Синтетические или высокоочищенные PC, такие как диолеилфосфатидилхолин (DOPC), являются особенно подходящими как часть компонента (б). Наиболее предпочтительно синтетический диолеил-PC представляет собой 1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин, и другие синтетические PC-компоненты включают DDPc (1,2-дидеканоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DEPC (1,2-дизукоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DLOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DLPC (1,2-дилауроил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DMPC (1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DOPC (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DPPC (1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); DSPC (1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин); MPPC (1-миристоил-2-пальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); MSPC (1-миристоил-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин); PMPC (1-пальмитоил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); POPC (1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфохолин); PSPC (1-пальмитоил-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин); SMPc (1-стеароил-2-миристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин); SOPC (1-стеароил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфохолин) и SPPC (1-стеароил-2-пальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин) или любую их комбинацию.

При некоторых обстоятельствах, таких как отсутствие консервантов, таких как EDTA, применение синтетических или высокоочищенных PC (например, DOPC) может обеспечить более высокую стабильность активного агента в композициях. Таким образом, в одном воплощении компонент (б) может содержать (например, может содержать по меньшей мере 75%) синтетические или высокоочищенные (например, со степенью очистки >90%) PC (например, DOPC). В частности, это возможно в отсутствие хелатирующих агентов, таких как EDTA. В альтернативном воплощении компонент (б) может содержать (например, содержать по меньшей мере 75%) PC, происходящий от природного источника, такой как соевый PC или яичный PC. В частности, это относится к случаям, когда композиция-предшественник содержит по меньшей мере один стабилизирующий компонент (такой как антиоксидант, хелатирующий агент и т.д.).

Особенно предпочтительная комбинация компонентов (а) и (б) представляет собой GDO и PC, особенно GDO с соевым PC и/или DOPC. Соответствующие количества каждого компонента, подходящие для комбинации, представляют собой количества, указанные здесь, для отдельных компонентов, в любой комбинации. Там где позволяет контекст, это также относится к любым комбинациям компонентов, указанным здесь.

Соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46. Предпочтительно соотношение (а):(б) находится в диапазоне от 45:55 до 54:46, более предпочтительно от 47:53 до 53:47. Наиболее предпочтительно соотношение (а):(б) составляет приблизительно 50:50.

Компонент (в) - органический моноспиртовой растворитель.

Компонент (в) прекомпозиций по изобретению представляет собой органический моно-спиртовой растворитель. Поскольку прекомпозиция предназначена для образования депо-композиции после введения (например, *in vivo*), обычно при контакте с избытком водной жидкости, желательно, чтобы данный растворитель был переносимым для субъекта и был способен к смешиванию с водной жидкостью и/или диффузии или растворению вне прекомпозиции в водную жидкость. Таким образом, предпочтительны растворители, обладающие по меньшей мере умеренной растворимостью в воде.

Наиболее предпочтительно компонент (в) содержит этанол, пропанол, изопропанол или их смеси или состоит из них. Наиболее предпочтительно компонент (в) содержит этанол или состоит из него.

В предпочтительном воплощении природа растворителя такова, что добавление его относительно небольшого количества к смеси, содержащей (а) и (б) (т.е. предпочтительно менее 15%) приводит к существенному уменьшению вязкости, на один порядок или более. Как описано здесь, добавление 10% органического моноспиртового растворителя может привести к уменьшению вязкости на два или более порядка, по сравнению с композицией, свободной от растворителя или по сравнению с депо, содержащим только полярный растворитель, такой как вода или глицерин.

Количество компонента (в) в прекомпозиции будет оказывать существенный эффект на несколько свойств. В частности, вязкость и скорость (и продолжительность) высвобождения будут существенно меняться в зависимости от количества растворителя. Таким образом, количество растворителя будет по меньшей мере достаточным для обеспечения маловязкой смеси, но его будут определять также для обеспечения желаемой скорости высвобождения. Оно может быть определено обычными способами в свете приведенных ниже Примеров. Обычно количество растворителя от 0,1 до 20%, обеспечит подходящие высвобождение и вязкость. Оно будет обычно составлять от 5 до 16% (например, от 6 до 14%), и количество приблизительно 8% (например, $8 \pm 2\%$) является высокоэффективным.

Как указано выше, количество компонента (в) в прекомпозициях по изобретению будет по меньшей мере достаточным для обеспечения маловязкой смеси (например, молекулярного раствора, см. выше) компонентов (а), (б), (в), (г) и, возможно, (е), и стандартные способы позволят легко определить ее для любой конкретной комбинации компонентов.

Фазовые свойства можно анализировать такими методиками, как визуальное наблюдение в комбинации с поляризационной световой микроскопией, рентгеновский структурный анализ, дифракционные методики, ядерный магнитный резонанс и криопросвечивающая электронная микроскопия (крио-ТЕМ) для наблюдения растворов, L₂- или L₃-фаз или жидкокристаллических фаз или, как в случае крио-ТЕМ, рассеянных фрагментов таких фаз. Вязкость может быть непосредственно измерена стандартными способами. Как описано выше, подходящая практическая вязкость представляет собой вязкость, позволяющая эффективно манипулировать композицией с использованием шприца и особенно стерилизовать ее фильтрацией. Это будет легко оценить, как указано здесь.

Типичные органические моно-спиртовые растворители, подходящие для использования в изобретении включают по меньшей мере один растворитель, выбранный из этанола, пропанола, изопропанола и бензилового спирта, в частности этанол.

Особенно предпочтительная комбинация компонентов (а), (б) и (в) представляет собой соевый PC, GDO и этанол. Как указано выше, соответствующие количества каждого компонента, подходящие для комбинации, представляют собой количества, указанные здесь, для отдельных компонентов, в любой комбинации.

Предпочтительно немногие или ни один из компонентов (в) не содержат галогензамещенных углеводородов, поскольку они обычно имеют меньшую биологическую совместимость.

При использовании здесь компонент (в) может представлять собой один растворитель или смесь подходящих растворителей, но будет обычно иметь малую вязкость. Это важно, поскольку один из ключевых аспектов настоящего изобретения состоит в обеспечении прекомпозиций с малой вязкостью, и основная функция подходящего растворителя состоит в снижении этой вязкости. Это снижение будет представлять собой комбинацию эффекта низкой вязкости растворителя и эффекта молекулярных взаимодействий между растворителем и липидной композицией. Одно наблюдение авторов настоящего изобретения состоит в том, что кислородосодержащие растворители с низкой вязкостью, описанные здесь, демонстрируют крайне предпочтительные и неожиданные молекулярные взаимодействия с липидными частями композиции, обеспечивая посредством этого нелинейное уменьшение вязкости при добавлении небольшого объема растворителя.

Вязкость "маловязкого" растворителя компонента (в) (одного растворителя или смеси) должна обычно составлять не более 18 мПа·с при 20°C, предпочтительно она составляет не более 15 мПа·с, более предпочтительно не более 10 мПа·с и наиболее предпочтительно не более 7 мПа·с при 20°C.

Компонент (г) - полярный растворитель.

Некоторые из существенных преимуществ композиций по настоящему изобретению обусловлены неожиданным обнаружением того, что применение спиртового растворителя в комбинации с полярным растворителем, таким как диол или вода, позволяет значительно повысить эффективность определенных липидных композиций с контролируемым высвобождением. В частности, согласно наблюдениям, добавление диола, такого как пропиленгликоль, или воды, уменьшает вязкость композиции липида/спирта/активного агента без нежелательного влияния на профиль высвобождения активного агента, и/или позволяет увеличить долю спирта без нежелательного влияния на профиль высвобождения активного агента, и/или позволяет улучшить профиль высвобождения. Подразумевают, что "нежелательное влияние на профиль высвобождения" означает увеличение соотношения C_{max}/C_{ave} и/или увеличение соотношения C_{max}/C_{min} (например, увеличение по меньшей мере в 1,2 раза). Сходным образом, улучшение профиля высвобождения означает уменьшение соотношения C_{max}/C_{ave} и/или C_{max}/C_{min} (например, уменьшение по меньшей мере в 1,2 раза).

Несмотря на более ранние предположения о том, что липидные композиции с контролируемым высвобождением следует изготавливать по существу в отсутствие воды во избежание перехода в высоковязкие жидкокристаллические фазы, сейчас установлено, что небольшое и тщательно контролируемое количество полярного растворителя, такого как вода, может обеспечить существенные преимущества. В частности, включение этого полярного растворителя (предпочтительно содержащего воду) позволяет дополнительно улучшить контроль начального высвобождения активного агента, позволяет осуществлять более высокие загрузки некоторых пептидных активных агентов, обеспечивает более быстрое образование депо и/или обеспечивает дополнительное уменьшение дискомфорта при инъекции. Любой из этих факторов потенциально обеспечивает существенное улучшение в контексте терапевтической доставки лекарственных средств, здоровья пациента и/или приверженности пациента к лечению.

Таким образом, прекомпозиции по настоящему изобретению должны также содержать полярный растворитель, компонент (г). Подходящее количество составляет 1,2-20% (мас.), особенно 2-18% (мас.). Более предпочтительно компонент (г) присутствует в диапазоне 5-15% (мас.), особенно 6-12% (мас.). Компонент (г) представляет собой воду, пропиленгликоль или их смеси. В одном предпочтительном аспекте прекомпозиции по изобретению содержат этанол в качестве компонента (в) с водой и/или пропиленгликолем в качестве компонента (г).

В одном воплощении прекомпозиция содержит по меньшей мере 1,5% (например, по меньшей мере 4,5%) воды в составе компонента (г) (по массе от всей композиции), остальная часть представляет собой пропиленгликоль. Предпочтительно по меньшей мере 5% представлено водой, а остальная часть компонента (г) представляет собой пропиленгликоль. Компонент (г) может содержать воду или состоять из нее.

В альтернативном воплощении компонент (г) может содержать пропиленгликоль или состоять из него.

Предпочтительно общее количество компонентов (в) и (г) составляет не более 35% (мас.), предпочтительно не более 30% (мас.), предпочтительно 10-30% (мас.), наиболее предпочтительно 12-25%.

Соотношение компонентов (в) и (г) будет также иметь потенциальные преимущества в композициях по изобретению. В частности, включение некоторого количества полярного растворителя, смешиваемого с моно-спиртовым компонентом (особенно воды), позволяет по существу устранить возможную легкую чувствительность в месте инъекции, обусловленную содержанием спирта. Таким образом, в одном воплощении соотношение компонентов (в):(г) может быть в диапазоне от 30:70 до 70:30, более предпочтительно от 40:60 до 60:40. В одном воплощении количество спиртового компонента (в) по массе не превышает количество полярного растворителя (г). Соотношения (в):(г) в диапазоне от 30:70 до 50:50 являются, таким образом, подходящими в таком воплощении. Крайне предпочтительны приблизительно равные количества компонентов (в) и (г).

Крайне предпочтительная комбинация для типа липидной матрицы представляет собой соевый РС, GDO, этанол, и воду/пропиленгликоль, или их смеси. Как указано выше, соответствующие количества каждого компонента, подходящие для комбинации, представляют собой количества, указанные здесь, для отдельных компонентов, в любой комбинации.

Компонент (д) - пептидный активный агент.

Прекомпозиции по настоящему изобретению содержат один или более пептидных активных агентов. Подходящие пептидные активные агенты раскрыты и подробно обсуждены в US WO 2006/075124, и содержание этого документа включено в настоящий документ посредством ссылки. Подходящие пептиды для использования в необходимых пептидах могут встречаться в природе или происходить от природных пептидов или могут представлять собой химически модифицированные или полностью синтетические пептидные молекулы. Пептиды, включая описанные здесь, могут содержать любые аминокислоты и могут быть химически или ферментативно модифицированы.

Типичные пептидные активные агенты будут иметь молекулярную массу в диапазоне от 500 до 100000 а.е.м. и могут, очевидно, включать белковые активные агенты. В одном воплощении полипептиды могут иметь по меньшей мере один катионный заряд при нейтральном и/или физиологическом pH, и наиболее предпочтительно им будет необходим по меньшей мере один анионный противоион при pH 6,5 или выше, предпочтительно при pH 7,5 или выше. Этот противоион будет физиологически приемлемым и может, таким образом, представлять собой галогенид или ион физиологически приемлемой кислоты. Ацетатные противоионы и/или хлоридные ионы являются особенно предпочтительными, и поэтому в одном воплощении изобретения активный агент представляет собой ацетат и/или хлорид пептида.

Примеры подходящих классов пептидов включают пептидные гормоны и их синтетические аналоги (такие как рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона (LHRH) и его аналоги (например, лейпрорелин, гoserелин, бусерелин, трипторелин, дегареликс), инкретины и миметики инкретинов (такие как аналоги GLP-1 или глюкозозависимый инсулиотропный пептид (GIP)), глюкагон инсулин и его аналоги, интерфероны, вазопрессины, кальцитонины и т.д.), цитокины, фрагменты антител (FABs; scVFs), антимикробные пептиды (например, кортикостатины, дефензины, гистатины), специфичные направленно действующие пептиды (например, как примеры, описанные в Current Opinion Genetics & Development 10, 71-77 (2006)), токсинные пептиды (например, конопептиды) и иммуногенные пептиды (например, фрагменты белков, используемые в целях вакцинации).

В одном воплощении аналоги LHRH (также известные как аналоги GnRH) образуют предпочтительную группу активных агентов для использования в настоящем изобретении. Предпочтительно такие пептиды будут структурно сходны с GnRH I, II и/или III и/или одним или более из известных аналогов, включая перечисленные здесь.

Особенно предпочтительные аналоги GnRH представляют собой ограниченные пептиды из 6-12 альфа-аминокислот, конкретные примеры которых включают указанные выше, и, в частности, леупролид и гoserелин с последовательностями, указанными выше.

В другом воплощении аналоги GLP-1 образуют другую предпочтительную группу активных агентов. Аналоги GLP-1 будут пептидами, особенно приблизительно из 30 аминокислот, например от 20 до 45, особенно от 25 до 38. Предпочтительно такие пептиды будут структурно сходны с GLP-1 и/или одним или более из его известных аналогов, включая перечисленные здесь. При использовании здесь "аналог GLP-1" обозначает любой агонист рецепторов GLP-1 (или менее предпочтительно антагонист), включая встречающиеся в природе формы GLP-1, человеческие или от любого другого вида. Эти аналоги предпочтительно представляют собой пептиды, производные пептидов или миметики пептидов. Агонисты GLP-1, являющиеся производными пептидов, наиболее предпочтительны, особенно GLP-1 (7-37), GLP-1 (7-36)амид, лираглутид (Novo Nordisk), AVE-010 (ZP10 - Zealand Pharma - Sanofi-Aventis), TH0318 (TheraTechnologies), CJC-1131 (ConjuChem), LY548806 (Lilly), эксенатид (Byetta, Amylin-Lilly) и их производные.

В пептидных активных агентах по настоящему изобретению пептиды могут содержать только аминокислоты, выбранные из 20 α -аминокислот, указанных в генетическом коде, или, более предпочтительно могут содержать их изомеры и другие природные и искусственные аминокислоты (обычно α -, β - или γ -аминокислоты) и их аналоги и производные.

Производные аминокислот особенно полезны на концах пептидов, где концевые аминокислоты или карбоксильные группы могут быть замещены любой другой функциональной группой, такой как гидрокси-, алкокси-, карбокси (на N-конце), эфир, амид, тио-, амидо-, амино- (на C-конце), алкиламино-, ди- или триалкиламино-, алкил (под которым здесь понимают C_1 - C_{20} -алкил, предпочтительно C_1 - C_{18} -алкил, например метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изо-, втор- или трет-бутил и т.д.), арил (например, фенил, бензил, нафтил и т.д.), гетероарил или другие функциональные группы, предпочтительно по меньшей мере одним с гетероатомом и предпочтительно имеющие в общей сложности не более 20 атомов, более предпочтительно не более 10 и наиболее предпочтительно не более 6 атомов (возможно, за исключением галогенов).

В одном предпочтительном воплощении настоящего изобретения пептидный активный агент будет содержать соматостатин или его любой аналог или производное.

Соматостатин имеет две активные формы, образуемые альтернативным расщеплением одного пре-пробелка: одну из 14 аминокислот, другую из 28 аминокислот. Соматостатин 1-14 представляет собой циклический пептидный гормон, имеющий последовательность Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys, где два цистеиновых остатка соединены дисульфидным мостиком с образованием β -поворота II типа при ключевой связывающей последовательности Phe-Trp-Lys-Thr. Соматостатин является природным пептидным гормоном, также известным как фактор, ингибирующий высвобождение гормона роста, и выполняет функции антагониста инсулина, глюкагона и определенных других гормонов при высвобождении соматотропина (человеческого гормона роста). Биологический период полувыведения природного соматостатина очень короткий (1-3 мин), поэтому самого по себе его сложно изготовить в форме эффективного лекарственного средства. Тем не менее, липидные депо-композиции по настоящему изобретению являются высокоэффективными для активных агентов с коротким периодом полувыведения, при этом становятся доступными все больше аналогов соматостатина с более высокой активностью и/или более продолжительным временем клиренса *in vivo*.

Аналоги соматостатина, такие как октреотид, ланреотид, вапреотид, пасиреотид (SOM 230) и схожие пептиды, применяют, или они показаны, при лечении множества состояний, при этом их обычно вводят на протяжении длительного периода.

Октреотид, например, представляет собой синтетический октапептид с последовательностью D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ол (2-7 дисульфидная связь), и его обычно вводят в форме ацетатной соли. В некоторых клинических исследованиях также изучен памоат октреотида. В этом производном сохранен ключевой β -поворот Phe-(D)Trp-Lys-Thr, но в отличие от природного гормона он имеет конечный период полувыведения приблизительно 1,7 ч. Октреотид используют при лечении состояний, включающих карциноидные опухоли и акромегалию, и после начальной дозы его обычно вводят на протяжении длительного периода продолжительностью несколько недель или, чаще, нескольких месяцев или лет. Кроме того, аналоги соматостатина показаны при лечении многих злокачественных новообразований, поскольку обнаружено, что широкий спектр опухолей экспрессирует рецепторы соматостатина. Особенный интерес представляют опухоли, экспрессирующие рецептор "sst(2)" и/или "sst(5)".

Наиболее распространенной "простой" композицией октреотида является "Sandostatin" (RTM) от Novartis. Он представляет собой раствор для подкожной (s.c.) инъекции, и при дозе 100 мкг пиковую концентрацию 5,2 нг/мл отмечают через 0,4 ч после инъекции. Продолжительность действия может составлять вплоть до 12 ч, но s.c. введение обычно проводят каждые 8 ч. Очевидно, что s.c. инъекция 3 раза в сутки на протяжении периодов продолжительностью несколько месяцев или лет не является идеальной схемой приема.

Во избежание необходимости нескольких инъекций октреотида в сутки доступна другая комбинация, "Sandostatin LAR" (RTM), тоже от Novartis. Он представляет собой композицию октреотида в микросферах из сополимера лактат-гликолят, которые, после ресуспендирования могут быть введены внутримышечной (i.m.) инъекцией.

Карциноидные опухоли представляют собой опухоли кишечника, возникающие из специализированных клеток с паракринными функциями (APUD-клеток). Первичная опухоль обычно расположена в аппендиксе, с которого начинаются ее клинические проявления. Вторичные метастатические карциноидные опухоли кишечника секретируют большие количества вазоактивных веществ, включая серотонин, брадикинин, гистамин, простагландины и полипептидные гормоны. Клиническим результатом является карциноидный синдром (синдром эпизодических кожных приливов, цианоза, колик в животе и диареи у пациента с пороком клапана сердца и, реже, астмой и артропатией). Рост этих опухолей возможен в любом месте в желудочно-кишечном тракте (и в легких), приблизительно в 90% случаев в аппендиксе. В остальных случаях - в подвздошной кишке, желудке, ободочной или прямой кишке. В настоящее время лечение карциноидного синдрома начинают i.v. болюсной инъекцией с последующей i.v. инфузией. При отсутствии достаточного эффекта на симптомы начинают лечение депо-композицией октреотида, заключенного в микросферы из сополимера лактат-гликолят (PLGA). Тем не менее, в течение первых двух недель или более после инъекции депо рекомендованы ежедневные s.c. инъекции октреотида для компенсации медленного высвобождения октреотида из PLGA-сфер.

Акромегалия представляет собой редкое хроническое и постепенно развивающееся гормональное расстройство, развивающееся при избыточном образовании гормона роста (GH) гипофизом. Чаще всего оно поражает взрослых среднего возраста и может приводить к преждевременной смерти.

Наиболее серьезными последствиями акромегалии для здоровья являются сахарный диабет, гипертензия и повышенный риск сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, у пациентов с акромегалией повышен риск развития полипов толстой кишки, способных к озлокачествлению. Частота акромегалии составляет приблизительно 60 случаев на 1 млн человек при заболеваемости 3,3 новых случаев на миллион в год. Слово акромегалия происходит от греческих слов "конечность" (асго) и "большой" (megaly), поскольку одним из наиболее частых симптомов этого состояния является аномальный рост кистей рук и

стоп.

Акромегалия является следствием продолжительного чрезмерного образования гормона роста (GH) и избыточного образования инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I). В 98% случаев чрезмерное образование GH обусловлено аденомой гипофиза. Скорость образования GH и агрессивность опухоли варьируют от пациента к пациенту. Обычно более агрессивные опухоли наблюдают у более молодых пациентов.

Акромегалия является тяжелым часто поздно диагностируемым заболеванием. Показатели морбидности и смертности высоки, в частности, из-за сопутствующей сердечно-сосудистых, цереброваскулярных и респираторных расстройств и злокачественных новообразований.

Лечение акромегалии начинают периодом s.c. инъекций три раза в сутки (оптимальная суточная доза = 300 мкг октреотида). После последнего s.c. введения и при условии наличия подходящего эффекта начинают лечение депо-композицией октреотида, заключенного в микросферы из сополимера лактат-гликолят (PLGA). Корректировку дозы проводят после измерения биомаркеров (HG и IGF-1), обычно приблизительно через 3 месяца.

Существующая композиция октреотида с медленным высвобождением основана на хорошо известном типе депо-композиции с деградируемым полимером. Обычно такие композиции основаны на биodeградируемом полимере, таком как полимолочная кислота (PLA) и/или сополимер лактат-гликолят (PLGA), и могут существовать в форме раствора в органическом растворителе, преполимера в смеси с инициатором, инкапсулированных полимерных частиц или (как в случае с октреотидом) полимерных микросфер.

В одном типичном воплощении пептидный активный агент (например, аналог соматостатина) будет обычно включен в композицию в количестве от 0,02 до 12% по массе всей композиции. Типичные значения будут составлять от 0,1 до 10%, предпочтительно от 0,2 до 8%, более предпочтительно от 0,5 до 6% (например, от 1 до 3%). Там, где позволяет контекст, эти уровни могут быть применимы ко всем аспектам изобретения. Для октреотида еще более предпочтительный диапазон составляет приблизительно от 0,5 до 4% (мас.), более предпочтительно 1-3% (мас.) и наиболее предпочтительно 1,5-2,5% (мас.).

В родственном воплощении пептидный активный агент может быть включен в композицию в количестве, которого сложно добиться в отсутствие полярного растворителя в составе смеси. В таком воплощении содержание пептидного активного агента (например, аналога соматостатина) обычно составляет по меньшей мере 0,7%, предпочтительно по меньшей мере 1%, более предпочтительно по меньшей мере 1,8% или по меньшей мере 2% по массе композиции. Настоящее изобретение позволяет достичь количества по меньшей мере 3% и по меньшей мере 4%, а также вплоть до 8, 10 или 12%. Такие композиции по настоящему изобретению обычно не только содержат очень большое количество пептидного активного агента (в частности, аналога соматостатина, например, октреотида), как указано здесь, но также стабильны при хранении без утраты или разрушения активного агента на протяжении значительных периодов, как указано здесь. Такие периоды будут обычно составлять по меньшей мере 1 месяц при 25°C или по меньшей мере 1 месяц при 5°C, предпочтительно по меньшей мере 3 месяца и более предпочтительно по меньшей мере 6 месяцев при 5°C или альтернативно при 25°C. Там, где позволяет контекст, эти степени стабильности применимы ко всем аспектам изобретения и относятся как к активному агенту, так и к фазовым свойствам прекомпозиции.

В родственном воплощении, в ситуации с высокой растворимостью пептидного активного агента в спиртовом компоненте, может быть предпочтительным ограничить эту растворимость этого агента. Не будучи связанными теорией, полагают, что избыточная растворимость в этом спиртовом компоненте может привести к тому, что спирт будет переносить значительное количество активного агента из депо-композиции при ее образовании *in vivo*. Поэтому в одном воплощении настоящего изобретения полярный растворитель используют для контроля растворимости активного агента в прекомпозиции, что способствует контролю профиля высвобождения.

В одном воплощении пептидный активный агент может представлять собой пептид, не являющийся аналогом соматостатина (как определено здесь). Например, пептидный активный агент может представлять собой пептид, не взаимодействующий ни в качестве агониста, ни в качестве антагониста ни с одним из рецепторов SST(1)-SST(5) (в особенности, с соответствующими человеческими рецепторами).

В одном воплощении пептидный активный агент может быть модулятором двух рецепторов, имеющим аналог соматостатина, непосредственно конъюгированный с агонистом или антагонистом другого рецептора. Они названы здесь "двухрецепторными агонистами". Двухрецепторные агонисты, как указано здесь, представляют собой пептидные соединения, имеющие по меньшей мере два отдельных домена, один из которых действует как агонист рецептора соматостатина, а другой действует как агонист или антагонист другого биологического рецептора. Такие двойные агонисты отличаются от простого неспецифического агониста тем, что, несмотря на то, что домены могут быть и предпочтительно ковалентно связаны друг с другом, домен, действующий как агонист рецептора соматостатина, расположен в части пептидной последовательности, отличной от домена действующего на другой рецептор. То есть, двойной агонист представляет собой соединение, в котором пептидная последовательность, действующая на рецептор соматостатина и по существу не действующая на второй рецептор, химически связана (непосред-

ственно или косвенно) с последовательностью, действующей на второй рецептор и по существу не обладающей функцией агониста рецепторов соматостатина.

В одном воплощении активный агент не является двойным агонистом рецепторов амилина/рецепторов GLP-1.

В настоящем изобретении раскрыт способ контроля растворимости пептидного активного агента (такого как аналог соматостатина, как описано здесь) в маловязкой смеси, содержащей:

- а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;
 - б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);
 - в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;
 - д) по меньшей мере один пептидный активный агент, отличный от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);
- включением компонента полярного растворителя (г) с образованием депо-композиции-предшественника.

Применение полярного растворителя в таком способе формирует еще один аспект.

Очевидно, прекомпозиции и компоненты смеси, а также их свойства и т.д., будут соответствовать описанным здесь для других аспектов.

Сходным образом, в настоящем изобретении раскрыт способ улучшения профиля высвобождения пептидного активного агента (такого как аналог соматостатина, как описано здесь) из депо-композиции, образованной при инъекции маловязкой смеси, содержащей:

- а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;
 - б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);
 - в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;
 - д) по меньшей мере один пептидный активный агент, отличный от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);
- включением компонента полярного растворителя (г) в указанную маловязкую смесь с образованием депо-композиции-предшественника.

Применение полярного растворителя в таком способе формирует еще один аспект.

Очевидно, прекомпозиции и компоненты смеси, а также их свойства и т.д., будут соответствовать описанным здесь для других аспектов.

Соответствующие способы и применения обеспечивают уменьшение дискомфорта в месте инъекции, уменьшение вязкости прекомпозиции и/или уменьшение начального "взрывного" высвобождения маловязкой смеси, содержащей:

- а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;
 - б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);
 - в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;
 - д) по меньшей мере один пептидный активный агент, отличный от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);
- включением компонента полярного растворителя (г) в указанную маловязкую смесь с образованием депо-композиции-предшественника.

Все описанные выше применения и способы улучшения различных свойств прекомпозиции и/или получаемой депо-композиции предпочтительно применяют без отрицательного влияния на профиль высвобождения пептидного активного агента.

Там, где пептидный активный агент содержит аналог соматостатина (например, октреотид), подходящие дозы для включения в композицию и, таким образом, используемый объем композиции будут зависеть от скорости высвобождения (контролируемой, например, в соответствии с используемыми типом и количеством растворителя, содержанием антиоксиданта и т.д.) и продолжительности высвобождения, а также от желаемого терапевтического уровня, активности конкретного агента и скорости клиренса конкретного выбранного активного агента. Обычно количество составляет приблизительно от 0,05 до 40 мг в неделю на протяжении действия депо, предпочтительно от 0,1 до 20 мг в неделю (например, от 1 до 10 мг в неделю) на протяжении 1-24 недель, например, от 2 до 16 (например, 3, 4, 8, 10 или 12) недель. В альтернативном воплощении прекомпозиция может быть изготовлена для еженедельного введения (например, каждые 7±1 суток). Общая доза от 0,05 до 250 мг на введение будет подходящей для обеспечения терапевтического уровня в течение 7-168 суток. Она будет предпочтительно составлять от 0,1 до 192 мг, например, от 0,2 до 160 мг, от 0,1 до 1,6 мг, от 20 до 160 мг и т.д. Очевидно, стабильность активного агента и линейность скорости высвобождения будут означать, что между включением и продолжительностью может не быть линейной зависимости. Депо, вводимое каждые 30 суток, может иметь, например, от 0,2 до 20 мг или 90-суточное депо может иметь от 60 до 120 мг активного агента (например, аналога соматостатина, например, октреотида). Также очевидно, что особенно важен будет биологический период полувыведения конкретного активного агента. Период полувыведения составляет менее

5 мин, и поэтому для длительного высвобождения будет необходимо относительно большое количество (например, ближе к верхней границе диапазона). Очевидно, для аналога, такого как октреотид, со значительно более длительным периодом полувыведения необходимое количество будет меньше. Подходящие количества для других активных агентов будут легко определены специалистами в данной области техники с учетом известного терапевтического уровня, желательной продолжительности действия и объема, подлежащего инъекции. Хорошей базой расчета было бы умножение обычной суточной дозы активного агента на продолжительность действия депо в сутках. Затем можно проанализировать композицию на предмет линейности высвобождения и по необходимости провести корректировку.

Важным свойством настоящих композиций является возможность включения и введения пептидных активных агентов с очень коротким периодом полувыведения, содержащих, например, соматостатин и его аналоги, в депо-предшественник по настоящему изобретению, и обеспечения контролируемого высвобождения на протяжении нескольких суток или даже недель, несмотря на очень короткий биологический период полувыведения активного агента (например, менее 1 ч, предпочтительно менее 15 мин, например, менее 5 мин). Таким образом, в одном воплощении активный агент имеет период полувыведения менее 1 ч, например, менее 15 мин, и прекомпозиция образует депо, обеспечивающее длительное высвобождение на протяжении по меньшей мере 7 суток, предпочтительно по меньшей мере 14 суток, более предпочтительно по меньшей мере 28 суток.

Как и практически все органические молекулы, липиды и биологически активные агенты термодинамически нестабильны относительно окисления. В результате многие липидные композиции, включая липидные композиции, содержащие биологически активные агенты, такие как API, подвержены разрушению при хранении, особенно из-за окисления.

В крайне предпочтительном воплощении аспект липидной матрицы представляет собой соевый PC, GDO, этанол и воду/пропиленгликоль или их смеси, и пептидный активный агент содержит соматостатин или аналог соматостатина. Как указано выше, соответствующие количества каждого компонента, подходящие для комбинации, представляют собой количества, указанные здесь, для отдельных компонентов, в любой комбинации.

Необязательный компонент (е) - антиоксидант.

Компонент (е) представляет собой антиоксидант. Наиболее предпочтительно он выбран из аскорбиновой кислоты, этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) и лимонной кислоты.

Во всех аспектах изобретения компонент (е) обычно присутствует при массовом соотношении антиоксиданта и пептидного активного агента от 1:50 до 1:1500, предпочтительно от 1:100 до 1:1300 и наиболее предпочтительно от 1:150 до 1:1250. Поскольку типичные антиоксиданты имеют меньшую молекулярную массу, чем пептидные активные агенты, доля антиоксиданта по массе может быть относительно небольшой. Например, при малой молекулярной массе агента для коррекции pH (например, менее 500 а.е.м.) от 0,0001 до 0,5% композиции могут быть представлены антиоксидантом, например, от 0,0005 до 0,2%, более предпочтительно от 0,0008 до 0,1%, например, от 0,001 до 0,015%.

К сожалению, многие распространенные антиоксиданты мало совместимы с липидными системами. Действительно, авторы настоящего изобретения установили, что некоторые антиоксиданты, обычно используемые в предшествующих системах, могут приводить к усиленному разрушению активных агентов в липидной системе. Это особенно актуально для пептидных активных агентов. Поэтому авторы настоящего изобретения проанализировали множество потенциальных антиоксидантных соединений и классов для применения в липидных матричных системах и неожиданно обнаружили, что один определенный класс антиоксидантов является необычно подходящим для применения в этих системах.

Содержание антиоксиданта обычно находится в диапазоне от 0,0001 до 0,5% по массе всей прекомпозиции. Особенно предпочтительны приблизительно от 0,0005 до 0,015% антиоксиданта (в частности, EDTA), особенно в комбинации с другими предпочтительными компонентами и диапазонами, указанными здесь выше и ниже.

Данные о стабильности при использовании ряда различных антиоксидантов демонстрируют, что EDTA-антиоксиданты неожиданно более эффективно подавляют окислительное разрушение биологически активных агентов, чем другие антиоксиданты. В качестве антиоксиданта EDTA может также демонстрировать синергичный эффект в комбинации с антиоксидантами по настоящему изобретению, сохраняя химическую и физическую стабильность пептидного активного агента и всей прекомпозиции. EDTA оказывает стабилизирующее действие на активный агент.

Под "стабилизацией" понимают увеличение растворимости или диспергируемости компонента (особенно активного агента) в депо-системе доставки или, альтернативно, повышение стабильности композиции, особенно в отношении физической или химической стабильности растворенного или диспергированного активного агента. Повышение стабильности может, таким образом, быть продемонстрировано растворением, диспергированием или суспендированием большего количества активного агента в присутствии антиоксиданта, чем было бы возможно уравниванием, таким как перемешивание в течение длительного периода (например, 5 суток при 25°C) в отсутствие антиоксиданта. В равной степени, повышение стабильности может быть продемонстрировано химической и/или физической стабильностью пептидного активного агента в липидной композиции в течение большего периода, чем можно было бы

наблюдать в отсутствие антиоксиданта. Это предпочтительно анализировать в обычных условиях хранения, таких как 0-5°C, 25°C и/или температура окружающей среды. Это дополнительно описано ниже.

Необязательные дополнительные компоненты.

В одном особенно предпочтительном воплощении настоящего изобретения композиции (прекомпозиции и образуемые ими депо) не содержат фрагментирующих агентов, таких как полиэтиленоксидный или полиэтиленгликолевый (PEG) фрагментирующий агент, например, связанные с PEG липид и/или поверхностно-активное вещество.

Например, композиции предпочтительно не содержат фрагментирующих агентов, таких как полифорбат-80 (P80) или другие полисорбаты (например, полисорбат-20), пегилированные фосфолипиды (PEG-липиды, такие как DSPE-PEG(2000), DSPE-PEG(5000), DOPE-PEG(2000) и DOPE-PEG(5000)), Solutol HS 15, пегилированные жирные кислоты (например, PEG-олеат), блоксополимеры, такие как Pluronic® F127 и Pluronic® F68, этоксилированные производные касторового масла (например, кремофоры), пегилированные эфиры жирных кислот и глицерина (такие как TMGO-15 от Nikko Chemicals) и пегилированные токоферолы (такие как сукцинат d-альфа-токоферилполи(этиленгликоля) 1000, известный как витамин E TPGS от Eastman).

Тем не менее, полипептидному активному агенту в форме порошка (например, в наборе), а также активному агенту, растворенному в липидной композиции, можно придать стабильность (как стабильность при хранении, так и стабильность *in vivo*) посредством определенных стабилизирующих добавок. Такие добавки включают сахара (например, сахарозу, трегалозу, лактозу и т.д.), полимеры (например, полиолы, такие как карбоксиметилцеллюлоза), аминокислоты (такие как метионин, глутамат, лизин и т.д.), липидорастворимые кислотные компоненты, такие как HCl, анионные липиды и/или поверхностно-активные агенты (такие как диолеилфосфатидилглицерин (DOPG), пальмитоилолеилфосфатидилглицерин (POPG) и олеиновая кислота (OA)).

Формы для однократного введения должны сохранять стабильность и активность при хранении перед применением, но могут быть утилизированы после однократного применения. В одном воплощении форма для однократного введения стабильна в условиях замораживания (например, 0-5°C) должна быть стабильна при комнатной температуре (например, 25°C) в течение по меньшей мере 12 месяцев. Формы для многократного введения должны не только сохранять стабильность и активность при хранении перед применением, но также должны сохранять стабильность и активность и быть относительно свободными от бактерий на протяжении периода введения при схеме применения с несколькими введениями после первого применения со вскрытием упаковки. По этой причине для форм многократного введения часто необходим антимикробный или микробиостатический агент, например бактериостатический агент, консервант.

Тем не менее, изготовление фармацевтических препаратов с консервантами, содержащих белковые или пептидные активные агенты, часто затруднительно, поскольку использование консервантов приводит к проблемам со стабильностью. Часто происходит инактивация белков с образованием агрегатов, что может иногда приводить к сообщениям о непереносимости в месте инъекции или иммуногенности активного вещества. Это может быть в дальнейшем усилено дополнительными эксципиентами или компонентами композиции.

Один аспект каждого из описанных здесь воплощений может, возможно, включать антимикробный или микробиостатический агент, включая бактериостатические агенты и консервант. Такие агенты включают хлорид бензалкония, м-крезол, бензиловый спирт или другие феноловые консерванты. Могут быть использованы типичные концентрации, известные в данной области техники.

Тем не менее, неожиданно было обнаружено, что для обеспечения формы для многократного введения с использованием настоящих композиций с пептидным активным агентом нет необходимости в дополнительном консерванте, антимикробном или микробиостатическом агенте, например бактериостатическом или бактерицидном, или в дополнительном количестве такого агента. Композиции, как описано здесь, обеспечивают консервирующее действие с приемлемой стабильностью пептида и стабильностью композиции. Они могут быть использованы для однократного введения, а также для применения с многократным введением. В этом отношении, предпочтительные композиции, описанные здесь, для многократного введения могут содержать этанол, пропиленгликоль, лимонную кислоту и/или EDTA, как описано здесь, предпочтительно в достаточных концентрациях не только для обеспечения их основного полезного эффекта, как описано здесь, но также в достаточной концентрации, самой по себе или в любой комбинации, для обеспечения консервирующего действия при сохранении стабильности активного агента и комбинации.

В случае их присутствия дополнительные компоненты, помимо компонентов, указанных как компоненты (а)-(е), будут предпочтительно присутствовать в количестве от 0 до 5% (например, от 0,01 до 5%) по массе, предпочтительно не более 2% по массе и более предпочтительно не более 1% по массе.

В одном воплощении компоненты (а) и (б) (с учетом любых примесей, свойственных природе этих компонентов) составляют по меньшей мере 95% липидных компонентов композиции. Предпочтительно по меньшей мере 99% общего липидного содержимого прекомпозиции состоит из компонентов (а) и (б). Предпочтительно липидный компонент прекомпозиции состоит по существу из компонентов (а) и (б).

Введение

Композиции по настоящему изобретению обычно изготавливают для парентерального введения. Это введение обычно не будет внутрисосудистым, но будет предпочтительно подкожным (s.c.), внутримышечным или внутримышечным (i.m.). Обычно введение будет производиться за счет инъекции, данный термин использован здесь для обозначения любого способа введения композиции через кожу, например, иглой, катетером или безыгольным инъектором. Тем не менее, можно получить пользу от большой загрузки и других полезных свойств настоящей композиции при непарентеральном применении, включая местное или системное применение на коже, слизистых оболочках, носовой полости, щеке и/или полости рта. Предпочтительно такое непарентеральное введение предназначено для местного применения.

Предпочтительно парентеральное введение проводят i.m или s.c. инъекцией, наиболее предпочтительно глубокой s.c. инъекцией. Важным свойством композиции по изобретению является возможность ее введения как i.m., так и s.c. и другими путями введения без проявления токсичности или существенных местных эффектов. Она также является подходящей для внутримышечного введения. Глубокая s.c. инъекция обладает преимуществом за счет меньшей глубины и меньшей болезненности для субъекта, чем (глубокая) i.m. инъекция, применяемая с некоторыми современными депо, и является технически наиболее подходящей в данном случае, поскольку она сочетает простоту введения и низкий риск местных побочных эффектов. Авторы настоящего изобретения неожиданно установили, что композиции обеспечивают длительное высвобождение активного агента на протяжении предсказуемого периода времени как при подкожной, так и при внутримышечной инъекции. Поэтому это позволяет широко варьировать место инъекции и вводить дозу без подробного рассмотрения тканевой глубины и места инъекции.

Предпочтительные липидные прекомпозиции по настоящему изобретению обеспечивают неламеллярные жидкокристаллические депо-композиции при контакте с водными жидкостями, особенно *in vivo*. При использовании здесь термин "неламеллярная" использован для обозначения нормальной или обращенной жидкокристаллической фазы (такой как кубическая или гексагональная фаза), или L₃-фазы, или любой их комбинации. Термин "жидкокристаллическая" включает все гексагональные, все кубические жидкокристаллические фазы и/или все их смеси. При использовании здесь "гексагональная" указывает на "нормальную" или "обращенную" гексагональную (предпочтительно обращенную) и "кубическая" указывает на любую кубическую жидкокристаллическую фазу, если не указано иное. С учетом описания и примеров, представленных здесь, и WO 2005/117830 специалисту в данной области техники не составит труда определить композиции, имеющие подходящие фазовые свойства, но наиболее предпочтительными фазовыми свойствами обладают композиции, где соотношение компонентов (а):(б) находится в от 40:60 до 54:46. Крайне предпочтительны соотношения, составляющие приблизительно 50:50 (т.е. ± 2), наиболее предпочтительно приблизительно 50:50.

Важно учитывать, что прекомпозиции по настоящему изобретению имеют малую вязкость. В результате эти прекомпозиции не должны быть в какой-либо крупной жидкокристаллической фазе, поскольку высокая вязкость всех жидкокристаллических фаз не позволяет вводить их шприцем или инъектором. Прекомпозиции по настоящему изобретению будут, таким образом, в нежидкокристаллическом состоянии, таком как раствор, L₂- или L₃-фаза, в частности раствор или L₂. При использовании здесь "L₂-фаза" предпочтительно представляет собой "набухшую" L₂-фазу, содержащую более 5% (мас.), предпочтительно более 7% и наиболее предпочтительно более 9% органического моноспиртового растворителя (компонента (в)), обладающего эффектом уменьшения вязкости. Прекомпозиции по изобретению, представленные в L₂-фазе, формируют одну предпочтительную группу прекомпозиций, и они будут обычно содержать по меньшей мере 2% воды в качестве полярного растворителя.

При использовании здесь термин "маловязкая смесь" использован для обозначения смеси, которая может быть легко введена субъекту и, в частности, легко введена с использованием стандартных шприца и иглы. На это может указывать, например, возможность введения из одноразового шприца объемом 1 мл через иглу малого калибра. Предпочтительно маловязкие смеси могут быть введены через иглу 19 awg, предпочтительно менее 19 размера, наиболее предпочтительно иглу 23 awg (или наиболее предпочтительно даже 27 размера) ручным нажатием. В особенно предпочтительном воплощении маловязкая смесь должна представлять собой смесь, способную проходить через стандартную мембрану для стерилизации фильтрацией, такую как 0,22 мкм шприцевой фильтр. Типичный диапазон подходящих вязкостей будет составлять, от 1 до 1000 мПа·с, более предпочтительно от 10 до 750 мПа·с и наиболее предпочтительно от 25 до 500 мПа·с при 20°C.

Было обнаружено, что добавление небольших количеств маловязкого органического моноспиртового растворителя, как указано здесь, позволяет обеспечить очень существенное изменение вязкости. Например, добавление всего 5% растворителя в липидную смесь может снизить вязкость в 100 раз, и добавление 10% может снизить вязкость вплоть до 10000 раз. Для достижения этого нелинейного синергичного эффекта снижения вязкости важно использовать растворитель подходящей низкой вязкости и подходящей полярности. Такие растворители включают растворители, описанные ниже. Подходящие маловязкие смеси включают молекулярные растворы, включая дисперсии пептидного активного агента в

молекулярном растворе других компонентов.

При введении предпочтительные липидные прекомпозиции по настоящему изобретению претерпевают структурный фазовый переход от маловязкой смеси к высоковязкой (обычно тканеадгезивной) депо-композиции. Обычно это будет переход от молекулярной смеси, набухшей L₂- и/или L₃-фазы к одной или более (высоковязким) жидкокристаллическим фазам, таким как нормальные или обращенные гексагональные или кубические жидкокристаллические фазы или их смеси. При введении могут также происходить другие фазовые переходы. Очевидно, для полезного применения изобретения нет необходимости в полном фазовом переходе, но по меньшей мере поверхностный слой введенной смеси будет образовывать жидкокристаллическую структуру. Обычно этот переход будет быстрым, по меньшей мере для поверхностной области введенной композиции (части, непосредственно контактирующей с воздухом, поверхностями тела и/или биологическими жидкостями). Наиболее предпочтительно он будет проходить за несколько секунд или минут (например, от 1 с до 30 мин, предпочтительно до 10 мин, более предпочтительно 5 мин или менее). Остальная часть композиции может претерпевать фазовый переход к жидкокристаллической фазе медленнее посредством диффузии и/или по мере рассасывания поверхностного слоя.

Не будучи связанными теорией, полагают, что при контакте с избытком водной жидкости прекомпозиции по изобретению теряют некоторую часть или весь содержащийся в них органический растворитель (например, посредством диффузии) и впитывают водную жидкость из среды организма (например, *in vivo* среды). Для липидных прекомпозиций по меньшей мере часть композиции, например, образует неламеллярную, в частности жидкокристаллическую, структуру. В большинстве случаев эти неламеллярные структуры обладают высокой вязкостью и не легко растворяются или диспергируются в *in vivo* среде. Результатом является монолитное "депо", получаемое *in vivo*, с лишь ограниченной областью контакта с биологическими жидкостями. Кроме того, поскольку неламеллярная структура имеет большие полярные, неполярные и пограничные области, липидное депо очень эффективно солюбилизирует и стабилизирует активные агенты, такие как пептиды, и защищает их от разрушающих механизмов. По мере постепенного разрушения депо-композиции, образованной из прекомпозиции, на протяжении периода продолжительностью несколько суток, недель или месяцев, происходит постепенное высвобождение и/или диффузия активного агента из композиции. Так как внутренняя среда депо-композиции относительно защищена, прекомпозиции по изобретению являются очень подходящими для активных агентов с относительно коротким биологическим периодом полувыведения (см. выше).

Полагают, что включение по меньшей мере 10% полярного растворителя (особенно по меньшей мере 5% воды) в прекомпозиции позволит увеличить скорость фазового перехода к неламеллярной (например, жидкокристаллической) фазе на поверхности введенной прекомпозиции по сравнению с композициями, содержащими органические растворители по существу свободные от воды. Это позволяет повысить эффективность образуемого депо и также контролировать высвобождение активного агента.

Депо-системы, образуемые композициями по настоящему изобретению, очень эффективно защищают активный агент от разрушения и, таким образом, позволяют увеличить период высвобождения. Таким образом, композиции по изобретению могут обеспечить депо пептидных активных агентов, для которых необходимо введение один раз в 5-90 суток, предпочтительно 5-60 суток, более предпочтительно 6-32 суток. Очевидно, более длительный стабильный период высвобождения желателен для комфорта пациента и его приверженности к лечению, а также уменьшает необходимое время подготовки медицинского персонала, если композиция не предназначена для самостоятельного введения. Если композиция предназначена для самостоятельного введения, приверженность пациента к лечению может быть повышена еженедельным (например, каждые 7 суток, возможно ± 1 сутки) или ежемесячным (например, каждые 28 или 30 суток, возможно, ± 7 суток) введением, чтобы пациенты не забывали о необходимости введения.

Существенное преимущество депо-предшественников по настоящему изобретению состоит в том, что они представляют собой стабильные однородные фазы. То есть, их можно хранить в течение длительных периодов (предпочтительно по меньшей мере 6 месяцев) при комнатной температуре или при замораживании без разделения фаз. Помимо обеспечения преимуществ при хранении и простоты введения, это позволяет выбирать дозу пептидного активного агента (например, аналога соматостатина, например, октреотида) с учетом вида, возраста, пола, массы тела и/или физического состояния отдельного субъекта посредством инъекции выбранного объема.

Таким образом, согласно настоящему изобретению предложены способы, включающие выбор вводимого количества, специфичного для индивида, в частности с учетом массы тела субъекта. Способом данного выбора дозы является выбор вводимого объема.

В одном предпочтительном аспекте согласно настоящему изобретению предложена прекомпозиция, содержащая компоненты (а), (б), (в), (г), (е) и по меньшей мере один пептидный активный агент (например, аналог соматостатина, например, октреотид), как указано здесь. Количества этих агентов будут обычно в диапазоне 36-44% (а), 36-44% (б), 3-18% (в) и 5-18% (г) (предпочтительно включая по меньшей мере 2% воды) с пептидным активным агентом (например, аналогом соматостатина, например октреоти-

дом), присутствующим в количестве от 1 до 3%, где соотношение (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46.

Обычно компонент (е) присутствует при молярном отношении "антиоксидант:пептидный активный агент" от 1:50 до 1:1500, предпочтительно от 1:100 до 1:1300 и наиболее предпочтительно от 1:150 до 1:1250. Поскольку типичные антиоксиданты имеют меньшую молекулярную массу, чем пептидный активный агент (например, аналог соматостатина, например октреотид), доля антиоксиданта по массе может быть относительно небольшой. Например, при малой молекулярной массе агента для коррекции pH (например, менее 500 а.е.м.) от 0,001 до 5% композиции могут быть представлены антиоксидантом, предпочтительно от 0,002 до 2%, более предпочтительно от 0,002 до 0,15%, например, от 0,002 до 0,015%.

Существенное преимущество прекомпозиций по настоящему изобретению состоит в их стабильности при длительном хранении в их конечной "готовой к введению" форме. В результате их можно легко поставлять для введения медицинским персоналом, или пациентами, или лицами, осуществляющими уход, которым нет необходимости быть квалифицированными медицинскими работниками и которые могут не иметь опыта или навыков приготовления сложных препаратов. В частности, это важно при длительных, медленно протекающих заболеваниях, таких как диабет.

Устройства.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложено одноразовое устройство для введения (также содержащее компонент устройства), предварительно заполненное отмеренной дозой прекомпозиции по настоящему изобретению. Такое устройство будет обычно содержать одну дозу, готовую к введению, и будет обычно стерильно упаковано таким образом, что композицию хранят в устройстве до введения. Подходящие устройства включают картриджи, ампулы и в особенности шприцы и шприцевые цилиндры со встроенными иглами или со стандартными адаптерами (например, адаптерами Люэра) для присоединения стандартной одноразовой иглы.

Предварительно заполненные устройства по изобретению могут также подходящим образом быть включены в набор для введения. Такой набор для введения по меньшей мере одного пептидного активного агента будет содержать отмеренную дозу композиции по изобретению и, возможно, устройство для введения или его компонент. Предпочтительно доза будет расположена внутри устройства или компонента, которые будут подходящими для i.m. или предпочтительно s.c. введения. Наборы могут включать дополнительные компоненты для введения, такие как иглы, тампоны и т.д., и будут, возможно и предпочтительно, содержать инструкции по введению. Такие инструкции будут обычно относиться к введению способом, как описано здесь, и/или для лечения заболевания, указанного здесь выше.

Предпочтительные признаки и комбинации.

В комбинации с признаками и предпочтительными признаками, указанными здесь, прекомпозиции по изобретению могут иметь один или более из следующих предпочтительных признаков, независимо или в комбинации.

Все соотношения, указанные здесь, могут, возможно, варьировать вплоть до 10% от указанного количества, возможно и предпочтительно вплоть до 5%.

Компонент (а) содержит, состоит по существу или предпочтительно состоит из GDO.

Компонент (б) содержит, состоит по существу или предпочтительно состоит из соевого РС.

Компонент (в) содержит, состоит по существу или предпочтительно состоит из спирта, имеющего 1, 2, 3 или 4 атома углерода, предпочтительно изопропанола или более предпочтительно этанола.

Компонент (е) содержит, состоит по существу или предпочтительно состоит из аскорбиновой кислоты, этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) и/или лимонной кислоты.

Прекомпозиция содержит по меньшей мере один пептидный активный агент, предпочтительно аналог соматостатина, такой как октреотид.

Прекомпозиция содержит по меньшей мере один аналог соматостатина (как описано здесь), такой как по меньшей мере один пептид, имеющий агонистический и/или антагонистический эффект по меньшей мере на один из рецепторов SST(1) - SST(5) (например, у людей).

Прекомпозиция не содержит какого-либо аналога соматостатина (как описано здесь). Прекомпозиция имеет малую вязкость, как указано здесь.

Прекомпозиция образует жидкокристаллическую фазу, как указано здесь, при введении *in vivo*.

После введения *in vivo* прекомпозиция образует депо, высвобождающее по меньшей мере один активный агент на терапевтическом уровне на протяжении периода продолжительностью по меньшей мере 7 суток, предпочтительно по меньшей мере 21 сутки, более предпочтительно по меньшей мере 28 суток.

Прекомпозиция содержит большую загрузку пептидного активного агента (например, аналога соматостатина, например, октреотида), чем загрузку, стабильную в той же композиции в отсутствие компонента (д).

Прекомпозиция содержит большую загрузку пептидного активного агента (например, аналога соматостатина, например, октреотида), чем загрузка, получаемая уравниванием той же композиции в отсутствие компонента (е) при 25°C.

В комбинации с признаками и предпочтительными признаками, указанными здесь, способ (способы) лечения по настоящему изобретению может иметь один или более из следующих предпочтительных признаков, независимо или в комбинации.

Способ включает введение по меньшей мере одной композиции с одним или более предпочтительными признаками, как указано выше.

Способ включает введение по меньшей мере одной композиции, как указано здесь, i.m., s.c. или предпочтительно глубокой s.c. инъекцией.

Способ включает введение посредством предварительно заполненного устройства для введения, как указано здесь.

Способ включает введение иглой размера не более 20, предпочтительно размера менее 20 и наиболее предпочтительно размера 23 или менее.

Способ включает одно введение каждые 5-90 суток, предпочтительно 6-32 суток (например, 7 суток или 28-31 суток).

В комбинации с признаками и предпочтительными признаками, указанными здесь, применение (применения) прекомпозиций, указанных здесь, в изготовлении лекарственных средств может иметь один или более из следующих предпочтительных признаков, независимо или в комбинации.

Применение включает применение по меньшей мере одной композиции с одним или более предпочтительными признаками, как указано выше.

Применение включает изготовление лекарственного средства для введения по меньшей мере одной композиции, как указано здесь, i.m., s.c. или предпочтительно глубокой s.c. инъекцией.

Применение включает изготовление лекарственного средства для введения посредством предварительно заполненного устройства для введения, как указано здесь.

Применение включает изготовление лекарственного средства для введения иглой размера не более 20, предпочтительно размера менее 20 и наиболее предпочтительно размера 23 или менее.

Применение включает изготовление лекарственного средства для введения один раз каждые 5-90 суток, предпочтительно 5-60 суток, более предпочтительно 6-32 суток.

В комбинации с признаками и предпочтительными признаками, указанными здесь, предварительно заполненные устройства по изобретению могут иметь один или более из следующих предпочтительных признаков, независимо или в комбинации.

Они содержат предпочтительную композицию, как указано здесь.

Они содержат иглу размера менее 20, предпочтительно размера не более 23.

Они содержат одну дозу от 1 до 2000 мг пептидного активного агента (например, аналога соматостатина, например, октреотида), предпочтительно от 0,1 до 100 мг и более предпочтительно 1-50 мг, наиболее предпочтительно 5-35 мг.

Они содержат пептидный активный агент, аналог соматостатина (например, октреотид или эксенатид), в количестве от 1 до 100 мг.

Они содержат однородную смесь композиции по изобретению в готовой к инъекции форме.

Они содержат композицию компонентов (а)-(в) для сочетания с пептидным активным агентом с получением прекомпозиции по изобретению.

Они содержат пептидный активный агент для сочетания с композицией компонентов (а)-(в) и, возможно, (д) с получением прекомпозиции по изобретению.

Они содержат общий объем для введения не более 5 мл, предпочтительно не более 3 мл, более предпочтительно не более 1,5 мл.

Изобретение будет теперь дополнительно проиллюстрировано со ссылкой на следующие не ограничивающие его примеры и приложенные графические материалы.

Примеры

Сокращения:

OCT(Cl) - гидрохлорид октреотида (PolyPeptide Labs., USA);

SOM(Ac) - ацетат соматостатина 1-14 (PolyPeptide Labs., USA);

LEU(Ac) - ацетат леупролида (PolyPeptide Labs., USA);

TTA - ацетат трипторелина (Bachem, Switzerland);

TTP - памоат трипторелина (Bachem, Switzerland);

SPC - соевый фосфатидилхолин (Lipoid, Germany);

GDO - диолеат глицерина (Danisco, Denmark);

DOPC - диолеилфосфатидилхолин (NOF, Japan);

EtOH - этанол (99,5 об.%, Ph. Eur., USP);

PG - пропиленгликоль (Ph. Eur., USP).

Пример 1. Изготовление ОСТ-содержащих продуктов.

Таблица 1

Состав ОСТ-содержащих продуктов

Композиция	Ингредиент	ОСТ(Cl)	SPC	GDO	EtOH	PG	EDTA-вода ¹⁾
A	(% (масс.))	2,44	43,78	43,78	5,00	5,00	--
B	(% (масс.))	2,44	42,28	42,28	6,50	6,50	--
C	(% (масс.))	2,44	45,53	45,53	6,50	--	--
D	(% (масс.))	2,44	38,78	38,78	10,00	--	10,00
E	(% (масс.))	2,44	33,78	33,78	15,00	--	15,00

¹⁾ Концентрация в растворе составляет 0,10 мг EDTA/мл, данный раствор получали перемешиванием 10 мг EDTA_{Na} в воде.

При изготовлении депо-предшественников с композициями, представленными в табл. 1, сначала приготавливали маточные растворы пептида путем взвешивания ингредиентов, как описано в табл. 2, и перемешиванием на вибростенде (250-300 об/мин) до получения гомогенных растворов.

Таблица 2

Приготовление маточных растворов пептида

Композиция	Ингредиент	ОСТ(Cl)	EtOH	PG	EDTA-вода
A	(г)	2,44	5,00	5,00	--
B	(г)	2,44	6,50	6,50	--
C	(г)	2,44	6,50	--	--
D	(г)	2,56	--	--	10,50
E	(г)	0,28	--	--	1,73

При изготовлении A, B и C следующие количества (табл. 3) SPC и GDO взвешивали непосредственно в емкости, содержащей маточный раствор ОСТ(Cl).

Таблица 3

Количества SPC и GDO, добавляемые для получения CAM2029-BP, -BR и -BU

Композиция	Ингредиент	SPC	GDO
A	(г)	43,78	43,78
B	(г)	42,28	42,28
C	(г)	45,53	45,53

Затем смеси помещали на вибростенд (250-300 об/мин) до получения гомогенных растворов.

При изготовлении композиции D маточный липидный раствор получали смешиванием (вибростенд (250-300 об/мин)) 88,58 г SPC, 22,84 г EtOH и 88,58 г GDO до гомогенного раствора. Конечную композицию затем получали объединением 87,56 г маточного липидного раствора с 12,44 г маточного раствора пептида и перемешиванием (вибростенд (250-300 об/мин)) до гомогенности.

При изготовлении композиции E маточный липидный раствор получали смешиванием (вибростенд (250-300 об/мин)) 4,09 г SPC, 1,82 г EtOH и 4,09 г GDO до гомогенного раствора. Конечную композицию затем получали объединением 8,26 г маточного липидного раствора с 1,74 г маточного раствора пептида и перемешиванием (вибростенд (250-300 об/мин)) до гомогенности.

Пример 2. Высвобождение из ОСТ-содержащих продуктов in vitro.

При изготовлении композиций, состав которых представлен в табл. 4, сначала получали соответствующие маточные растворы ОСТ(Cl) в EtOH, смеси EtOH:PG или соответственно воде (как описано в примере 1), а затем их смешивали с другими компонентами до получения гомогенных растворов.

Таблица 4

Состав OCT-содержащих продуктов, анализируемых в эксперименте
ускоренного высвобождения *in vitro* (IVR)

Композиция	Ингредиент	OCT(Cl)	SPC	GDO	EtOH	PG	Вода
911	(% (масс.))	2,43	43,72	43,79	5,02	5,04	
912	(% (масс.))	2,43	42,08	42,13	6,56	6,81	
913	(% (масс.))	2,43	41,26	41,23	7,51	7,58	
914	(% (масс.))	2,43	45,41	45,60	6,56		
916	(% (масс.))	2,43	33,70	33,73	15,09		15,06
917	(% (масс.))	2,44	38,70	38,68	10,04		10,14
918	(% (масс.))	3,64	33,08	33,07	15,08		15,13
1006	(% (масс.))	2,00	41,48	41,48	7,55		7,49
1007	(% (масс.))	2,00	36,49	36,49	12,50		12,53
1010	(% (масс.))	2,00	38,96	38,95	10,12		9,97

Анализ ускоренного IVR OCT из каждой из композиций, представленных выше, проводили внесением приблизительно 100 мг ($\pm 20\%$) в стеклянную пробирку, содержащую 5 мл смеси забуференный фосфатом физиологический раствор:ацетонитрил 85:15 (об./об.). Пробирки закрывали и инкубировали при комнатной температуре сроком до 48 ч. Забор образцов проводили в разных временных точках от начала эксперимента, медленно отбирая 0,2 мл водной фазы, которую помещали непосредственно в 0,3 мл полипропиленовую пробирку для HPLC. Анализ проводили посредством HPLC-UV (высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ детектированием) с использованием аналитической колонки (ACE-5 C18, 50×3,0 мм) с градиентным элюированием (подвижная фаза А: 0,1 об.% трифторуксусной кислоты (TFA) в воде; подвижная фаза В: 0,1 об.% в 95 об.% метаноле, 5 об.% воды) и УФ детектировании при 282 нм.

Полученные результаты представлены на фиг. 1а и 1б.

Пример 3. Стабильность OCT-содержащих продуктов в присутствии/отсутствии EDTA.

При изготовлении композиции (размер партии 110 г) состава OCT(Cl)/SPC/GDO/EtOH 3,74/43,13/43,13/10,00 (все в % (мас.)) сначала растворяли 4,114 г OCT(Cl) в 11,000 г EtOH, далее последовательно добавляли 47,433 г SPC и 47,433 г GDO и перемешивали до образования гомогенного раствора (91).

Один образец (G), содержащий 3,37% (мас.) OCT(Cl) (приблизительно 2,98% (мас.) OCT-основания), получали смешиванием 0,9 г композиции 91 с 0,1 мг раствора, содержащего 0,1% (мас.) EDTA в воде HPLC чистоты.

Один образец (H), содержащий 3,37% (мас.) OCT(Cl), получали смешиванием 0,9 г композиции 91 с 0,1 мг воды HPLC-сорта.

Каждый образец разделяли на две аликвоты массой приблизительно 0,4 г/пробирку; одну аликвоту/образец инкубировали при 70°C, в то время как другую помещали при <-15°C (контроль). Все образцы анализировали через 7 суток инкубации в указанных выше условиях с применением нормально-фазовой HPLC (аналитическая колонка LiChrospher Diol 5 мкм, 250×3,2 мм) с аналитическим способом, основанным на UV/DAD, для количественного определения OCT и относительного определения OCT-родственных веществ. Присутствие EDTA в водной фазе существенно улучшало стабильность OCT в липидной матрице, как показано в результатах, представленных на фиг. 2.

Пример 4. Способность OCT-содержащих продуктов проходить через иглу при инъекции.

Способность проходить через иглу при инъекции определена здесь как скорость потока анализируемой жидкости из шприца (характеристиками которого являются его объем и строение) через иглу (характеристиками которой являются ее размер и длина) под действием постоянной силы против атмосферного давления.

В целях заполнения была предпочтительна толстая игла, например игла 18G. После заполнения шприца необходимым количеством композиции толстую иглу заменяли иглой, подлежащей анализу. Давлением на поршень с установленной новой иглой выпускали захваченный воздух. Избыток компози-

ции вытирали бумажной тканью и измеряли начальную массу (граммы) заполненного шприца. Затем шприц устанавливали в вертикальном положении иглой вниз с использованием металлического штатива и фиксатора. Выдавленную жидкость собирали непосредственно в стеклянную пробирку.

Вес 20 Н помещали по центру поршня и отсчет времени начинали при контакте веса и поршня. Затем проводили мониторинг времени опорожнения шприца. После опорожнения шприца измеряли его конечную массу (граммы). Для каждого образца и типа иглы проводили по меньшей мере два повторных измерения.

Способность проходить через иглу при инъекции вычисляли с использованием следующего уравнения:

$$\text{способность проходить через иглу при инъекции} = (\text{начальная масса} - \text{конечная масса}) / \text{время инъекции} \text{ (мг/с)}.$$

Способность некоторых ОСТ-содержащих продуктов проходить через иглу при инъекции представлена в табл. 5.

Таблица 5. Способность ОСТ-содержащих продуктов проходить при инъекции через 23 G тонкостенную (Terumo Neolus NN-2316R) и соответствующую 25 G тонкостенную (Terumo Neolus NN-2516R) иглы длиной 16 мм (мг композиции/с). Используемые шприцы представляли собой 1 мл пластиковые шприцы BD с наконечником Люэра (#309628).

Таблица 5

Композиция	Способность проходить при инъекции через иглу 23 G (мг/с)	Способность проходить при инъекции через иглу 25 G (мг/с)
91	71	25
911	49	17
912	86	38
913	126	49
914	32	12
916	252	109
917	126	49
918	308	115

Пример 5. РК-исследования у крыс *in vivo*.

Животные и источник.

В исследованиях были использованы самцы крыс SPF Sprague-Dawley (NTAC:SD) от M&B Taconic Europe A/S (Ejby, Denmark). При получении возраст крыс составлял от 8 до 9 недель при массе тела в диапазоне от 275 до 300 г. Введению предшествовал акклиматизационный период продолжительностью по меньшей мере 5 суток.

Содержание.

Крыс содержали парами в прозрачных поликарбонатных клетках (Macrolon® type III; Scanbur BK A/S, Karlslunde, Denmark) с площадью основания 810 см². В качестве выстилки использовали деревянную стружку Aspen (Tapvei Aspen Bedding, Tapvei Oy, Kortteinen, Finland). Для обогащения среды использовали древесные опилки для строительства гнезд (PM 90 L "Bobyggnadsmaterial", Tapvei) и кусок древесины ("Gnagpinne medium", Tapvei). Гранулированный сухой корм для грызунов (Labfor R70, Kimstad, Sweden) и воду давали *ad libitum*.

Введение.

Животным проводили введения в соответствии с внутренними стандартными операционными процедурами Samurus (SOP PK12-3). Кратко, введение проводили подкожными инъекциями между лопаток под легкой изофлурановой анестезией с использованием 1 мл шприца с наконечником Люэра и 25 мм иглы 23G.

Получение образцов крови.

Образы крови получали от бодрствующих животных сублингвальным кровопусканием. Временные точки получения образцов были следующими: перед введением, через 1, 6 ч, 1, 2, 5, 8, 14, 21, 28 и 35 суток после введения. Кровь собирали в тестовые пробирки, обработанные EDTA (Capiject 3T-MQK,

Terumo Medical Corporation), и помещали на лед сразу после сбора. После центрифугирования (приблизительно 1500×g при 5°C в течение 10 мин) плазму переносили в новые пробирки и хранили при -70°C до проведения анализа.

Биологический анализ.

Анализ ОСТ - образцы плазмы анализировали с использованием набора для ELISA (иммуноферментный анализ) S-1275 (Bachem/Peninsula Laboratories) "Octreotide - EIA Kit, Host: Rabbit, High Sensitivity", адаптированного для анализа ОСТ в EDTA-плазме крыс.

Результаты.

Фармакокинетические (ПК) профили композиций 91, 911 и 912 показаны на фиг. 3.

Пример 6. Изготовление композиций, содержащих ацетат леупролида (леупрорелин - LEU(Ac)).

Изготавливали композиции с леупролидом по изобретению, состав которых указан в табл. 6. При изготовлении композиций сначала растворяли LEU(Ac) в компонентах EtOH, WFI (вода для инъекций) и/или PG, после чего последовательно добавляли липидные компоненты, начиная с SPC с последующим добавлением GDO. Конечные композиции перемешивали на вибростенде при 250-300 об/мин до получения прозрачных и гомогенных жидких растворов. В завершение, композиции стерилизовали фильтрацией (0,2 мкм стерильный PVDF фильтр от Millipore) под давлением азота 2 бар (200 кПа).

Таблица 6

Состав (% (мас.)) композиций с ацетатом леупролида (LEU(Ac))

№ композиции	LEU(Ac)	SPC	DOPC	GDO	EtOH	WFI	PG
49	2,70 ¹⁾	43,65	-	43,65	10,00	-	-
50	2,70 ¹⁾	37,65	-	37,65	12,00	10,00	-
51	1,62 ²⁾	38,19	-	38,19	12,00	10,00	-
52	2,70 ¹⁾	33,65	-	33,65	15,00	15,00	-
53	2,70 ¹⁾	42,15	-	42,15	6,50	-	6,50
54	2,70 ¹⁾	41,15	-	41,15	7,50	-	7,50
55	2,70 ¹⁾	38,65	-	38,65	10,00	-	10,00
56	1,62 ²⁾	41,69	-	41,69	7,50	-	7,50
57	2,70 ¹⁾	-	41,15	41,15	7,50	-	7,50

¹⁾ Соответствует 25 мг ацетата леупролида на мл при учете чистоты и содержания пептида и плотности композиции.

²⁾ Соответствует 15 мг ацетата леупролида на мл при учете чистоты и содержания пептида и плотности композиции.

Пример 7. Изготовление композиций, содержащих ацетат трипторелина (ТТА) и памоат трипторелина (ТТР).

Изготавливали композиции по изобретению с ацетатом и памоатом трипторелина, состав которых указан в табл. 7. При изготовлении композиций сначала смешивали ТТА или ТТР с компонентами EtOH и PG, после чего последовательно добавляли липидные компоненты, начиная с SPC с последующим добавлением GDO. Конечные композиции перемешивали на вибростенде при 250-300 об/мин до получения прозрачных и гомогенных жидких растворов. В завершение, композиции стерилизовали фильтрацией (0,2 мкм стерильный PVDF фильтр от Millipore) под давлением азота 2 бар (200 кПа).

Таблица 7

Состав (% (мас.)) композиций с ацетатом трипторелина (ТТА) и
памоатом трипторелина (ТТР)

№ композиции	ТТА	ТТР	SPC	GDO	EtOH	PG
58	3,00 ¹⁾	-	41,00	41,00	7,50	7,50
59	3,00 ¹⁾	-	38,50	38,50	10,00	10,00
60	-	3,50 ¹⁾	40,75	40,75	7,50	7,50
61	-	3,50 ¹⁾	38,25	38,25	10,00	10,00

¹⁾ Соответствует 25 мг трипторелина в виде свободного основания на мл при учете чистоты и содержания пептида и плотности композиции.

Пример 8. Изготовление других композиций, содержащих хлорид октреотида (ОСТ(Cl)).

Изготавливали композиции по изобретению с октреотидом, состав которых указан в табл. 8. При изготовлении композиций сначала растворяли ОСТ(Cl) в компонентах EtOH, WFI и/или PG, после чего последовательно добавляли липидные компоненты, начиная с SPC с последующим добавлением GDO. Конечные композиции перемешивали на вибростенде при 250-300 об/мин до получения прозрачных и гомогенных жидких растворов. В завершение, композиции стерилизовали фильтрацией (0,2 мкм стерильный PVDF фильтр от Millipore) под давлением азота 2 бар (200 кПа).

Таблица 8

Состав (% (мас.)) композиций с хлоридом октреотида (ОСТ(Cl))

№ композиции	ОСТ(Cl)	SPC	GDO	EtOH	WFI
81 (91)	3,65 ¹⁾	43,18	43,18	10	-
82	2,44 ²⁾	43,78	43,78	10	-
83 (917)	2,44 ²⁾	38,78	38,78	10	10
84	1,46 ³⁾	39,27	39,27	10	10

Соответствует ¹⁾30 мг, ²⁾20 мг и ³⁾12 мг октреотида в виде свободного основания на мл при учете чистоты и содержания пептида и плотности композиции.

Пример 9. Изготовление композиций, содержащих ацетат соматостатина 1-14 (SOM(Ac)) и гидрохлорид соматостатина 1-14 (SOM(Cl)).

Изготавливали композиции по изобретению с ацетатом соматостатина 1-14 (SOM(Ac)) и гидрохлоридом соматостатина 1-14 (SOM(Cl)), состав которых указан в табл. 9. Гидрохлоридную соль, SOM(Cl), получали из ацетатной соли путем ионообменной хроматографии с последующей лиофилизацией раствора пептида сублимационной сушкой. Полный обмен противоионов подтверждали посредством HPLC. Композиции изготавливали сначала смешиванием липидных компонентов, SPC и GDO, с компонентами EtOH и PG с последующим перемешиванием на вибростенде при 250-300 об/мин для получения гомогенных липидных растворов. В липидный раствор добавляли порошки соответствующих лекарственных средств SOM(Ac) и SOM(Cl) в необходимом количестве. Конечные композиции перемешивали вращением с доннышка на крышку при комнатной температуре окружающей среды до получения прозрачных и гомогенных жидких растворов. В завершение, композиции стерилизовали фильтрацией (0,2 мкм стерильный PVDF фильтр от Millipore) под давлением азота 2 бар (200 кПа).

Таблица 9

Состав (% (мас.)) композиций с ацетатом соматостатина 1-14 (SOM(Ac)) и
гидрохлоридом соматостатина 1-14 (SOM(Cl))

№ композиции	SOM(Ac)	SOM(Cl)	SPC	GDO	EtOH	PG
9	-	3,00	43,50	43,50	5	5
11	-	4,00	38,00	38,00	10	10
14	3,00	-	38,50	38,50	10	10

Пример 10. Исследования композиций с леупролидом у крыс *in vivo*.

Общие аспекты описаны в примере 5. Введение крысам проводили подкожной инъекцией композиций 49 и 50 соответственно (см. табл. 6).

Образцы крови для фармакокинетического анализа.

Кровь для фармакокинетического анализа отбирали перед введением, через 1, 4, 10 ч, 1, 2, 3, 5, 7, 14 и 21 сутки после введения. Фактические временные точки получения образцов вычисляли как разность между временем получения образцов и временем введения. Отклонение $\pm 10\%$ от номинального времени было допустимым.

Биологический анализ.

Анализ леупролида проводили с использованием набора для высокочувствительного EIA (Des-Gly10, D-LEU6, Pro-NHET9)-LHRH (леупролида) (S-1174, Bachem/Peninsula Laboratories), адаптированного для анализа LEU в EDTA-плазме крыс.

Результаты.

Фармакокинетические (PK) профили композиций 49 и 50 показаны на фиг. 4.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция-предшественник, содержащая маловязкую смесь:
 - а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;
 - б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);
 - в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;
 - г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;
 - д) по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);
 где композиция-предшественник имеет вязкость 1-1000 мПа·с при 20°C;
 где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;
 где композиция-предшественник способна образовывать по меньшей мере одну жидкокристаллическую фазовую структуру при контакте с избытком водной жидкости.
2. Композиция-предшественник по п.1, где указанный активный агент представляет собой пептидный активный агент, являющийся аналогом соматостатина.
3. Композиция-предшественник по п.1 или 2, содержащая 1,8% (мас.) или более указанного по меньшей мере одного пептидного активного агента.
4. Композиция-предшественник по любому из пп.1-3, где компонент (г) представляет собой пропиленгликоль.
5. Композиция-предшественник по п.1, где компонент (г) содержит смесь пропиленгликоля и по меньшей мере 2% воды.
6. Композиция-предшественник по любому из пп.1-5, где компонент (а) содержит диолеат глицерина (GDO).
7. Композиция-предшественник по любому из пп.1-6, где компонент (б) содержит соевый PC.
8. Композиция-предшественник по любому из пп.1-7, где компонент (в) содержит этанол, пропанол, изопропанол или их смеси.
9. Композиция-предшественник по п.8, где компонент (в) представляет собой этанол.
10. Композиция-предшественник по любому из пп.1-9, где пептидный активный агент содержит по меньшей мере один аналог соматостатина, выбранный из соматостатина-14, соматостатина-28, октреотида, ланреотида, пасиреотида и вапреотида.
11. Композиция-предшественник по п.10, где пептидный активный агент представляет собой октреотид.
12. Композиция-предшественник по любому из пп.1-11, не содержащая полиэтиленоксидов.
13. Композиция-предшественник по любому из пп.1-11, не содержащая полиэтиленоксида P80.
14. Композиция-предшественник по любому из пп.1-13, где компонент (в) присутствует в количестве 5-20% (мас.).
15. Композиция-предшественник по п.14, где компонент (в) присутствует в количестве 5-18% (мас.).
16. Композиция-предшественник по п.14, где компонент (в) присутствует в количестве 5-16% (мас.).
17. Композиция-предшественник по п.14, где компонент (в) присутствует в количестве 8-15% (мас.).
18. Композиция-предшественник по любому из пп.1-17, где компонент (г) присутствует в количестве от 5 до 20% (мас.).
19. Композиция-предшественник по п.18, где компонент (г) присутствует в количестве от 5 до

18% (мас.).

20. Композиция-предшественник по п.18, где компонент (г) присутствует в количестве от 5 до 15% (мас.).

21. Композиция-предшественник по п.18, где компонент (г) присутствует в количестве от 8 до 15% (мас.).

22. Композиция-предшественник по любому из пп.1-21, где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 45:55 до 54:46.

23. Композиция-предшественник по любому из пп.1-22, где соотношение компонентов (в):(г) находится в диапазоне от 40:60 до 70:30.

24. Композиция-предшественник по любому из пп.1-23, имеющая обращенную мицеллярную (L_2)-фазовую структуру.

25. Композиция-предшественник по п.1, содержащая:

а) 36-44% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 36-44% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);

в) 3-18% (мас.) этанола;

г) 5-18% (мас.) пропиленгликоля;

д) 1-3% (мас.) пептидного активного агента, представляющего собой аналог соматостатина;

где композиция-предшественник имеет вязкость 1-1000 мПа·с при 20°C;

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;

где композиция-предшественник способна образовывать по меньшей мере одну жидкокристаллическую фазовую структуру при контакте с избытком водной жидкости.

26. Композиция-предшественник по п.25, где пептидный активный агент, представляющий собой аналог соматостатина, является октреотидом.

27. Способ изготовления композиции-предшественника, подходящей для введения пептидного биологически активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1), субъекту млекопитающему, включающий

получение маловязкой смеси:

а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);

в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;

г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46;

и растворение или диспергирование по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1), в маловязкой смеси или по меньшей мере в одном из компонентов (а), (б), (в) и (г) перед получением маловязкой смеси;

где изготавливаемая композиция-предшественник представляет собой композицию-предшественник по любому из пп.1-26.

28. Способ по п.27, где указанный пептидный активный агент представляет собой аналог соматостатина.

29. Способ по п.27 или 28, где изготавливаемая композиция-предшественник содержит компонент (в) в количестве 5-20% (мас.).

30. Применение смеси:

а) 33-60% (мас.) по меньшей мере одного диацилглицерина и/или токоферола;

б) 33-55% (мас.) по меньшей мере одного фосфатидилхолина (PC);

в) 0,1-20% (мас.) по меньшей мере одного биосовместимого органического моноспиртового растворителя;

г) 1,2-20% (мас.) полярного растворителя, выбранного из группы, состоящей из воды, пропиленгликоля или их смесей;

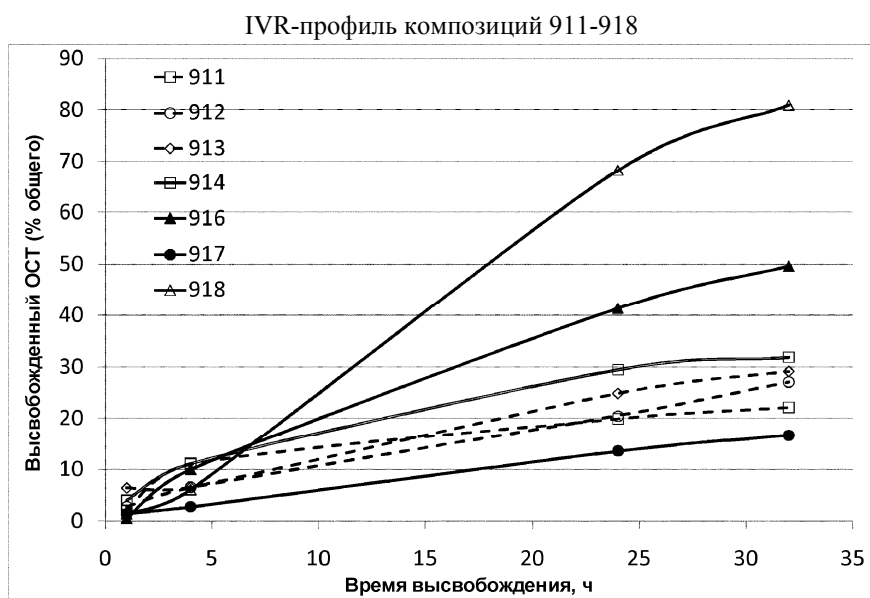
д) по меньшей мере одного пептидного активного агента, отличного от глюкагоноподобного пептида (GLP-1);

где соотношение компонентов (а):(б) находится в диапазоне от 40:60 до 54:46 в изготовлении композиции-предшественника по любому из пп.1-26 для использования в длительном введении указанного пептидного активного агента.

31. Способ лечения субъекта человека или субъекта млекопитающего, не являющегося человеком, нуждающегося в этом, для борьбы по меньшей мере с одним состоянием, выбранным из акромегалии, злокачественных новообразований, карцином, меланом, опухолей, экспрессирующих по меньшей мере один рецептор соматостатина, sst(2)-положительных опухолей, sst(5)-положительных опухолей, видов рака предстательной железы, гастроэнтеропанкреатических нейроэндокринных (GEP NE) опухолей, карциноидных опухолей, инсулином, гастрином, опухолей, продуцирующих вазоактивный интестинальный пептид (VIP), и глюкагоном, повышенного уровня гормона роста (GH), повышенного уровня инсулино-

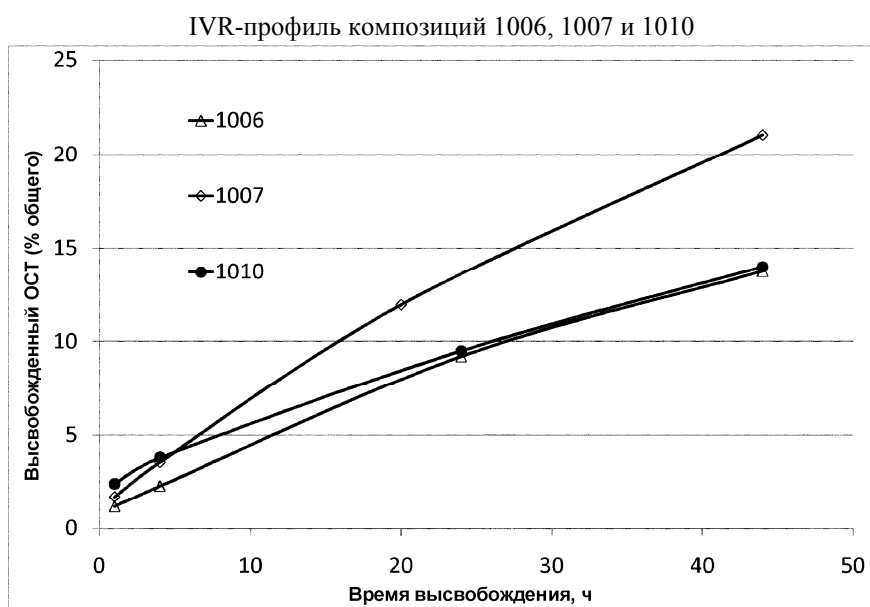
подобного фактора роста I (IGF-I), кровотечения из варикозно расширенных вен, желудочно-кишечных проблем, вызванных химиотерапией, лимфореи, диабетической ретинопатии, тиреотоксической офтальмопатии, ожирения, панкреатита и родственных состояний, включающий введение указанному субъекту композиции-предшественника по любому из пп.1-26.

32. Предварительно заполненное устройство для введения, содержащее шприц, имеющий шприцевой цилиндр, который содержит композицию-предшественник по любому из пп.1-26.



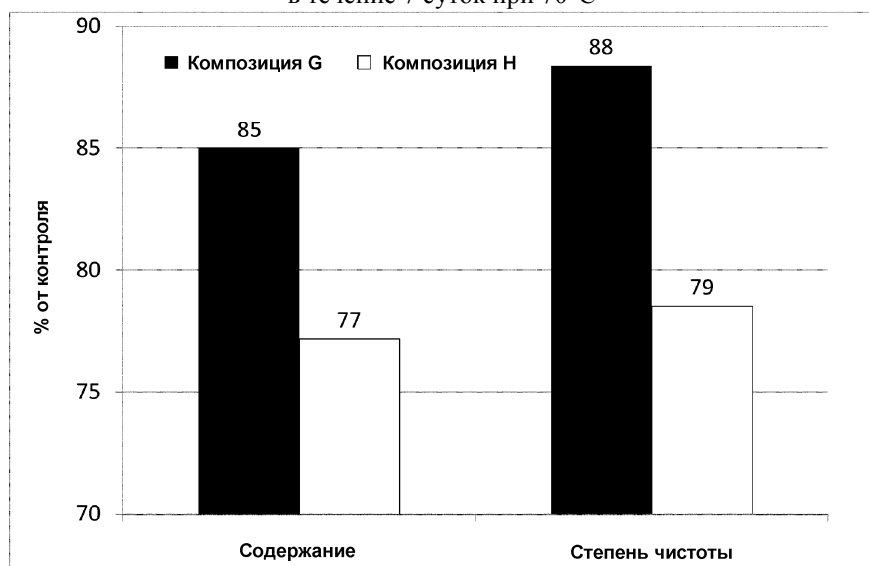
Время (сутки)

Фиг. 1а

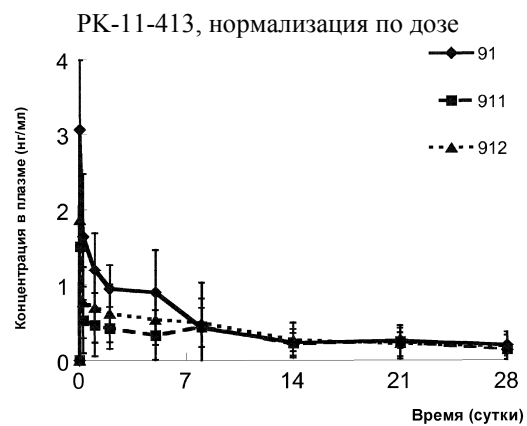


Фиг. 1б

Содержание и степень чистоты пептида после хранения композиций G и H в течение 7 суток при 70°C

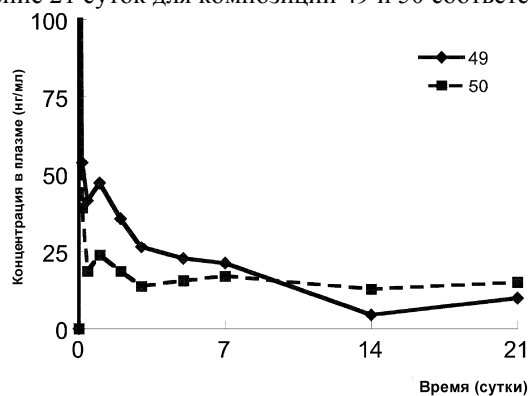


Фиг. 2



Фиг. 3

РК-11-425, зависимость концентрации леупролида в плазме от времени в течение 21 суток для композиций 49 и 50 соответственно



Фиг. 4

