



CH 688 911 A5



**SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT**  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① **CH 688 911 A5**

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>: **A 61 K 047/34**  
**C 08 L 101/08**  
**A 61 K 038/00**

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT A5**

⑲ Gesuchsnummer: 00311/94	⑦③ Inhaber: Zeneca Limited, Imperial Chemical House Millbank, London SW1P 3JF (GB)
⑳ Anmeldungsdatum: 25.05.1993	⑦② Erfinder: Hutchinson, Francis, Lymm/Ches (GB)
⑳⑩ Priorität: 28.05.1992 GB A9211268.9	⑦④ Vertreter: A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG Patentanwälte, Holbeinstrasse 36-38, 4051 Basel (CH)
⑳④ Patent erteilt: 29.05.1998	⑥⑥ Internationale Anmeldung: PCT/GB 93/01079 (En)
④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 29.05.1998	⑥⑦ Internationale Veröffentlichung: WO 93/24150 (En) 9.12.1993

⑤④ **Salze von Peptiden mit Polyestern mit endständigen Carboxygruppen.**

⑤⑦ Die Erfindung betrifft neue Zusammensetzungen von Salzen, welche sich aus einem Kation, das aus einem Peptid stammt, das mindestens eine basische Gruppe enthält, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, zusammensetzen, Verfahren zur Herstellung solcher Zusammensetzungen und ihre Verwendung zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen mit Depotwirkung. Die erfindungsgemässen Zusammensetzungen besitzen eine Vielzahl von Eigenschaften, die geeignet sind zur Formulierung von pharmazeutischen Zusammensetzungen mit Depotwirkung, unabhängig davon, ob die Salze in reiner Form sind oder in Mischung mit einem Überschuss des Peptids in der freien, ungebundenen Form oder einem Überschuss des freien Polyesters.



**CH 688 911 A5**

**Beschreibung**

Die Erfindung betrifft neue Salze gemäss Anspruch 1, die sich aus einem Kation, das sich von einem Peptid, das mindestens eine basische Gruppe enthält, ableitet, und einem Anion, das sich von einem Polyester mit einer endständigen Carboxygruppe ableitet, zusammensetzen. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung eines solchen Salzes bzw. einer Lösung oder Dispersion eines solchen Salzes, die in Anspruch 8 bzw. Anspruch 7 definiert werden, ferner eine pharmazeutische Zusammensetzung, welche das erwähnte Salz enthält und im Anspruch 10 definiert wird, und ein Verfahren zur Herstellung dieser pharmazeutischen Zusammensetzung, welches in Anspruch 35 definiert wird.

Die Salze der Erfindung haben eine Vielzahl von Eigenschaften, die nützlich sind zur Formulierung von pharmazeutischen Zusammensetzungen mit Depotwirkung, unabhängig davon, ob die Salze in reiner Form oder in Mischung mit einem Überschuss des Peptids in der freien ungebundenen Form oder einem Überschuss des freien Polyesters vorliegen. Solche Salze sind amphipatisch, da sie teilweise aus einem Peptid, das hydrophil und lipophob ist, und teilweise aus einem Polyester, der hydrophob und lipophil ist, zusammengesetzt sind.

Das Wort «Peptid» wird hier verwendet in einem allgemeinen Sinn und schliesst Poly(aminosäuren) ein, die normalerweise allgemein als «Peptide», «Polypeptide» oder «Proteine» bezeichnet werden; und ein «basisches Peptid» ist ein Peptid, das basisch ist durch die Gegenwart eines Überschusses von basischen Aminosäuren, zum Beispiel Arginin oder Lysin, oder durch das N-Ende des Peptids, oder einfach ein Peptid, das mindestens eine basische Gruppe enthält gegebenenfalls zusammen mit einer oder mehreren sauren Aminosäuregruppen. Der Ausdruck schliesst auch synthetische Analoge von Peptiden, unnatürliche Aminosäuren mit basischer Funktion oder irgendeiner anderen Form von eingeführter Basizität ein. Das Wort «Polyester» wird hier verwendet zur Bezeichnung eines Polyesters mit endständiger Carboxygruppe.

Das Europäische Patent Nr. 58 481 offenbart die Möglichkeit von spezifischen chemischen Wechselwirkungen zwischen der endständigen Carbonsäuregruppe eines Polyesters und einer basischen Gruppe oder basischen Gruppen eines Peptids. Lawter et al., Proc. Int. Symp. Control Rel. Bioact. Mater., 14, 19 (1987) und Okada et al., Pharmaceutical Research, 8, 584-587 (1991) beziehen sich auch auf diese Möglichkeit, aber diese Veröffentlichungen sind in dieser Hinsicht spekulativ, da sie nicht genau solche spezifischen Peptid-Polyester-Salze beschreiben, keinen Hinweis darauf geben, wie solche Salze hergestellt werden können und im Hinblick auf vorteilhafte Wirkungen, die sich durch Verwendung solcher Salze bei der Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen ergeben könnten, schweigen.

Erfindungsgemäss wird jedoch eine Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, die ein Salz enthält, das aus einem Kation, das sich von einem Peptid ableitet, das mindestens eine basische Gruppe enthält, und einem Anion, das sich von einem Polyester mit endständiger Carboxygruppe ableitet, gebildet wird; wobei die Zusammensetzung in Form einer Lösung oder Dispersion des Salzes in einem Lösungsmittel ist, das ein Lösungsmittel für den freien Polyester, nicht aber ein Lösungsmittel für das freie Peptid ist, wobei die Teilchengrösse des Salzes in der Dispersion geringer als 5  $\mu\text{m}$  und vorzugsweise geringer als 0,2  $\mu\text{m}$  ist; oder in Form von Mikroteilchen oder einem Implantat zur Injektion oder subdermalen Implantation.

Die Kationkomponente des Salzes kann sich von einem basischen Peptid ableiten, das pharmakologisch aktiv ist, oder von einem basischen Peptid, das pharmakologisch inaktiv ist. Wenn das basische Peptid pharmakologisch aktiv ist, kann das erfindungsgemässe Salz selbst als pharmazeutisches Präparat mit Depotwirkung formuliert werden. Wenn das basische Peptid pharmakologisch inaktiv ist, kann das erfindungsgemässe Salz als Hilfsstoff zur Formulierung von Zusammensetzungen mit Depotwirkung von anderen pharmakologisch aktiven Peptiden verwendet werden, die entweder sauer sind (die einen Überschuss von sauren Aminosäuren wie Asparaginsäure oder Glutaminsäure enthalten) oder neutral sind.

Ein weiteres Erfordernis für Peptidpräparate mit Depotwirkung ist natürlich, dass das Peptid über den vorgesehenen Freisetzezeitraum in dem Präparat im wesentlichen stabil sein sollte. Unter «in wesentlichen stabil» wird verstanden, dass das Arzneimittel nicht vollständig unlöslich oder denaturiert wird bei einem vollständigen Verlust der pharmakologischen Aktivität, während des für die Verwendung des Präparats vorgesehenen Zeitraums.

Geeignete pharmakologisch aktive Peptide haben ein Molekulargewicht von mindestens 300 u und vorzugsweise mindestens 800 u. Beispiele für solche Peptide, die im wesentlichen über den beabsichtigten Freisetzezeitraum in Präparaten mit Depotwirkung stabil sein können und die daher in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen verwendet werden können, sind Oxytocin, Vasopressin, adrenocorticotrophes Hormon (ACTH), Epidermalwachstumsfaktor (EGF), Prolactin, luteinisierendes Hormon, Follikel stimulierendes Hormon, Luliberin oder luteinisierendes Hormon freisetzendes Hormon (LHRH), Insulin, Somatostatin, Glucagon, Interferon, Gastrin, Tetragastrin, Pentagastrin, Urogastron, Secretin, Calcitonin, Enkephaline, Endorphine, Kyotorphin, Taftsin, Thymopoietin, Thymosin, Thymostimulin, Thymushumoralfaktor, Thymusserumfaktor, Tumornekrosefaktor, Kolonien stimulierende Faktoren, Motilin, Bombesin, Dinorphin, Neurotensin, Cerulein, Bradykinin, Urokinase, Kallikrein, Analoge und Antagonisten der Substanz P, Angiotensin II, Nervenwachstumsfaktor, Blutgerinnungsfaktoren VII und IX, Lyso-

zymchlorid, Renin, Bradykinin, Tyrocidin, Gramicidine, Wachstumshormone, Melanozyten stimulierendes Hormon, Thyroidhormon freisetzendes Hormon, Thyroid stimulierendes Hormon, Parathyroidhormon, Pancreozymin, Cholecystokinin, Humanplacentalactogen, Humanchoriongonadotrophin, die Proteinsynthese stimulierendes Peptid, Hemmpeptid für den Magen, vasoaktives Intestinalpeptid, Thrombozytenwachstumsfaktor, Wachstumshormon freisetzender Faktor, knochenmorphogenem Protein und synthetische Analoge und Modifikationen und pharmakologisch aktive Fragmente davon.

Bevorzugte Peptidkomponenten der erfindungsgemässen Zusammensetzungen sind synthetische Analoge von LHRH, insbesondere einschliesslich solcher Analoge wie Buserelin ([D-Ser(Bu)<sup>1</sup>]<sup>6</sup>, des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Deslorelin ([D-Trp<sup>6</sup>, des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Fertirelin ([des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Goserelin ([D-Ser(Bu)<sup>6</sup>, Azgly<sup>10</sup>]-LHRH), Histrelin ([D-His(Bzl)<sup>6</sup>, des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Leuprorelin ([D-Leu<sup>6</sup>, des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Lutrelin ([D-Trp<sup>6</sup>, Me-Leu<sup>7</sup>, des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>]-LHRH(1-9)NH<sub>2</sub>), Nafarelin ([D-Nal<sup>6</sup>]-LHRH), Tryptorelin ([D-Trp<sup>6</sup>]-LHRH) und pharmakologisch aktiver Salze davon, jedoch nicht darauf beschränkt.

Geeignete pharmakologisch inaktive basische Peptide, die für die erfindungsgemässen Salze verwendet werden können, sind Polyarginin, Polylysin und Poly(arginin-co-lysin), (Co-)Polymere von neutralen Aminosäuren in D-, L- oder DL-Form, mit Arginin und/oder Lysin in D-, L- oder racemischer Form oder Peptide oder (Co-)Polypeptide, bei denen die Peptidketten insgesamt oder teilweise mit einer basischen Gruppe am N-Ende enden und das Gerüst aus neutralen Aminosäureresten zusammengesetzt ist.

Die als Quelle für das Anion des erfindungsgemässen Salzes verwendeten Polyester mit endständigen Carboxygruppen können Homopolyester oder Copolyester sein. Bevorzugte Polyester sind solche, die in wässriger physiologischer Umgebung, z.B. in intramuskulärem oder subkutanem Gewebe, zu wasserlöslichen Fragmenten mit niedrigem Molekulargewicht abgebaut oder erodiert werden. In dieser Umgebung ist der Hauptabbauprozess eine einfache Massenhydrolyse, die eine hydrolytische Spaltung der Estergruppen bewirkt, was zu Homo- oder Copolyesterfragmenten mit niedrigerem Molekulargewicht und schliesslich zum Verschwinden des Präparates von der Verabreichungsstelle führt. Jedoch ist es anerkannt, dass an den Injektions- oder Implantationsstellen, ebenso wie an anderen Stellen in lebendem Gewebe, andere Abbaumechanismen involviert sein können, wie solche, die durch Enzyme vermittelt werden.

Geeignete Homo- und Copolyester sind solche, die sich von Hydroxysäuren ableiten oder durch Polykondensation von Diolen und/oder Polyolen, zum Beispiel (aber nicht beschränkt auf) Polyethylenglykolen, Polypropylenglykolen, 2-10C-Alkylenglykolen, Glycerin, Trimethylolpropan, und polyoxyethylierten Formen von polyfunktionellen Alkoholen wie Glycerin, Trimethylolpropan und Zuckern, mit Dicarbonsäuren und/oder Polycarbonsäuren, zum Beispiel (aber nicht beschränkt auf) (1-10C-Alkan)dicarbonsäuren, insbesondere Malon-, Bernstein- und Glutarsäure, Phthalsäure, Mellit- und Pyromellitsäure, gegebenenfalls in Anwesenheit von Hydroxysäure(n) und/oder Monoolen entstehen.

Die bevorzugten Verfahren zur Herstellung von Homo- und Copolyestern auf Basis von Hydroxysäuren sind Ringöffnungspolymerisation der cyclischen Säuredimere oder direkte Polykondensation oder Copolykondensation der Hydroxysäuren oder Mischungen der Hydroxysäuren oder Lactone, die sich von solchen Hydroxysäuren ableiten. Diese Polymerisationen, sowohl vom Ringöffnungstyp als auch vom Polykondensationstyp, werden vorzugsweise so durchgeführt, dass der entstehende Homo- oder Copolyester ganz oder teilweise Polymerketten mit Carbonsäurefunktionen enthält. So wird die Ringöffnungspolykondensation der Säuredimere in Gegenwart eines geeigneten Polymerkettenübertragungsmittels oder Cointiators durchgeführt, der sowohl das Molekulargewicht als auch den Aufbau des entstehenden Homo- oder Copolyesters kontrolliert. Geeignete Übertragungsmittel sind Wasser, Hydroxycarbonsäuren, Monocarbonsäuren, Dicarbonsäuren und Polycarbonsäuren.

Bei Polyestern, die durch Polykondensation oder Copolykondensation hergestellt werden, wird die Polymerisation unter solchen Bedingungen durchgeführt, dass ein Überschuss an Carbonsäurefunktionen verwendet wird, d.h. das Verhältnis von [-COOH] zu [-OH] ist gleich oder grösser 1. Die Struktur und das Molekulargewicht des Polykondensats werden bestimmt durch die Art der verwendeten Alkohole (je nachdem, ob Monoole, Diole oder Polyole oder eine Mischung verwendet werden), die Art der verwendeten Säuren (je nachdem, ob Mono-, Di- oder Polycarbonsäuren oder eine Mischung davon verwendet werden) und der verwendeten Menge an überschüssiger Carbonsäure. Säuren, die am Krebs-Zyklus beteiligt sind, sind besonders nützlich.

Beispiele für geeignete Hydroxysäuren oder Lactone, die verwendet werden können, um Homo- oder Copolyester herzustellen, die für die Erfindung geeignet sind, schliessen  $\beta$ -Propionolacton,  $\beta$ -Butyrolacton,  $\gamma$ -Butyrolacton und Pivalolacton, und  $\alpha$ -Hydroxybuttersäure,  $\alpha$ -Hydroxyisobuttersäure,  $\alpha$ -Hydroxyvaleriansäure,  $\alpha$ -Hydroxyisovaleriansäure,  $\alpha$ -Hydroxycapronsäure,  $\alpha$ -Hydroxyisocapronsäure,  $\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -methylvaleriansäure,  $\alpha$ -Hydroxyheptansäure,  $\alpha$ -Hydroxydecansäure,  $\alpha$ -Hydroxymyristinsäure und  $\alpha$ -Hydroxystearinsäure ein. Bevorzugte Homo- und Copolyester sind solche, die sich von Milchsäure in ihrer D-, L- oder DL-Form und von Glykolsäure ableiten oder die entsprechenden dimeren Lactide und Glykolide, und ein bevorzugtes fakultatives Kettenabbruchmittel ist Milchsäure.

Obwohl ein makromolekulares basisches Peptidazneimittel ganz oder teilweise als Polymerkation vorliegen kann und ein Polyester ganz oder teilweise als Polymeranion vorliegen kann, ist die Salzbildung, die sich durch Säure-Base-Wechselwirkung zwischen solchen Polymerarten ergibt, unter Verwendung üblicher Verfahren des Vermischens oder unter Verwendung organischer Lösungsmittel, ex-

trem schwierig oder sogar unmöglich. Zum Beispiel ist ein Vermischen der Schmelze der beiden Komponenten nicht geeignet, da es wohlbekannt ist, dass Peptide normalerweise nicht schmelzen, sondern sich stattdessen zersetzen bei den üblicherweise zum Schmelzen von Polymeren verwendeten Temperaturen. Selbst wenn jedoch das Peptid schmelzen würde (was es nicht tut), wäre es nicht kompatibel mit oder unlöslich in einem Homo- oder Copolyester aus den folgenden thermodynamischen Gründen.

Peptide sind Makromoleküle und besitzen daher typische Eigenschaften üblicher Polymere. Sie sind daher (in Abwesenheit von spezifischen chemischen oder physikalischen Wechselwirkungen) völlig inkompatibel mit oder unlöslich in anderen Makromolekülen, die eine andere chemische Struktur und Polymergerüststruktur haben, da die freie Energie des Vermischens von zwei verschiedenen Polymerarten sehr stark positiv ist und daher thermodynamisch nicht begünstigt ist. In der Masse sind Peptide sehr polar und haben stark über Wasserstoff gebundene Moleküle, mit dem Ergebnis, dass die Enthalpie beim Vermischen von Peptiden mit Homo- oder Copolyestern (die relativ unpolar sind und bei denen die Wasserstoffbindung entweder nicht vorhanden oder sehr schwach ist) sehr stark positiv ist; d.h. endotherm und thermodynamisch nicht begünstigt. Weiterhin sind Makromoleküle per definitionem gross und haben so eine geringe innere Entropie, was dazu führt, dass die Entropie beim Vermischen von zwei verschiedenen Makromolekülarten sehr gering oder sogar negativ ist (siehe zum Beispiel P.J. Flory, «Principles of Polymer Chemistry», Cornell University, 1953, 555; L. Bohn, «Polymer Handbook», 2. Ausgabe, J. Wiley, 1975, 111–211; und L. Bohn, Rubber Chemistry and Technology, 1966, 493). Demzufolge würde ein Vermischen eines Peptids mit einem Polyester bei erhöhter Temperatur im geschmolzenen Zustand nicht zu einem Vermischen auf Molekülebene führen, was notwendig dafür ist, dass eine Salzbildung auftritt. Ein einfaches Vermischen eines Peptids mit einem Polyester führt daher nicht zu einer Salzbildung.

Ähnliche Schwierigkeiten treten auf bei Versuchen, Salze aus Peptiden und Polyestern zu bilden unter Verwendung von organischen Lösungsmitteln, wenn nicht das Peptid eine gewisse Löslichkeit oder Quellbarkeit in dem Lösungsmittel aufweist. Die Löslichkeitseigenschaften von Polyestern und Peptiden sind vollständig verschieden. Lösungsmittel, die das Peptid lösen, wie zum Beispiel Wasser, sind vollständige Nichtlösungsmittel für den Polyester; und im allgemeinen sind gute Lösungsmittel für den Polyester, wie zum Beispiel Dichlormethan, vollständige Nichtlösungsmittel für das Peptid. Solche Lösungsmittel, die sowohl das Peptid als auch den Polyester lösen können, wie zum Beispiel Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid und N-Methylpyrrolidon, verursachen andere Probleme, da sie relativ nicht-flüchtig sind, hohe Siedepunkte haben und deshalb extrem schwierig zu entfernen sind und auch wegen der unannehmbaren Toxizität einiger dieser Lösungsmittel. Es war möglich, bestimmte Lösungsmittel für beide Komponenten zu finden, die etwas flüchtiger sind und toxikologisch annehmbar sind, aber solche Lösungsmittel bieten andere Schwierigkeiten. Zum Beispiel ist Essigsäure ein Lösungsmittel sowohl für Peptide als auch Polyester, aber die Verwendung einer grossen Menge des sauren Lösungsmittels macht das Peptid dafür anfällig, als Acetatsalz zu existieren (aus Gründen des Massenwirkungsgesetzes), so dass die Entfernung der Essigsäure bei Raumtemperatur (d.h. 20 bis 25°C) oder durch Gefrierdrehen zu einer Phasentrennung von Peptid und Polyester führt, so dass die erwünschte Salzbildung eher nicht auftritt.

Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Herstellung eines Salzes bereitzustellen, das ein Kation eines basischen Peptids und ein Anion eines Polyesters mit endständiger Carboxygruppe umfasst.

Die Herstellung der erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Salze kann durchgeführt werden unter Verwendung von Homo- oder Copolyestern, die Carbonsäuregruppen enthalten, und Peptiden, worin die basischen Reste als freie Base oder als Salze einer schwachen Säure vorhanden sind, vorzugsweise einer flüchtigen Säure mit einer Säuredissoziationskonstante von weniger als  $10^{-3}$  oder einem  $pK_a$  ( $pK_a = -\log_{10}K_a$ , worin  $K_a$  die Säuredissoziationskonstante ist) von mehr als 3. Ein solches besonders bevorzugtes basisches Peptidsalz ist ein Salz von Essigsäure. Wegen der inhärenten Inkompatibilität der beiden Makromolekülarten kann es jedoch notwendig sein, bestimmte Bedingungen zu verwenden, bei denen diese Peptid-Polyester-Salze erzeugt werden können.

Ein Mittel, um dies zu erreichen, ist es, ein Lösungsmittel zu verwenden, das sowohl das Peptid als auch den Polyester löst unter Bildung einer Lösung, aus der das Lösungsmittel direkt entfernt werden kann, wobei entweder erstens das amphipatische Salz oder zweitens eine Mischung von Polyester und Peptid in einem physikalischen Zustand, der dafür empfänglich ist, ein amphipatisches Salz zu bilden, wenn er weiter verarbeitet wird, zurückbleibt.

Ein Beispiel für die erste Lösung ist es, Lösungsmittel zu verwenden, wie zum Beispiel, ohne darauf beschränkt zu sein, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid und N-Methylpyrrolidon, das im wesentlichen neutral ist und das ein Lösungsmittel sowohl für das Peptid als auch den Polyester sein kann. Unter normalen Umständen, wie oben angegeben, sind diese Lösungsmittel extrem schwierig zu entfernen wegen ihrer hohen Siedepunkte und ihrer relativen Nicht-Flüchtigkeit. Wenn ein Peptid (zum Beispiel als Acetatsalz) und ein Polyester in einem dieser Lösungsmittel gelöst werden, neigt das Peptid dazu, als Salz mit dem Polyester zu existieren, da die stärker saure Milch- oder Glykolsäuregruppe in dem Polyester die schwächere Carbonsäure verdrängt. Die Masse des Lösungsmittels und der freigesetzten Essigsäure (oder einer anderen schwachen, aber flüchtigen Carbonsäure) kann im Va-

kuum entfernt werden und die restliche Lösung, die das Peptid-Polyester-Salz enthält, wird zu destilliertem Wasser zugegeben, um das unlösliche Polymersalz auszufällen.

Das destillierte Wasser ist vorzugsweise frei von Kohlendioxid, um die Bildung von Carbonatsalzen durch Verdrängung des Polyesteranions zu vermeiden. Restliches Lösungsmittel in dem Peptid-Polyester-Salz kann dann entfernt werden durch weiteres Waschen mit Wasser, auch vorzugsweise mit kohlendioxidfreiem Wasser. In manchen Fällen kann das Polymersalz direkt durch Ausfällen in Wasser isoliert werden, ohne dass es notwendig ist, irgendein Lösungsmittel zu entfernen, und diese Lösung ist besonders geeignet, wenn das Peptid als Base verwendet wird.

Somit wird gemäss einem weiteren Merkmal der Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Salzes, das ein basisches Peptid und einen Polyester mit endständiger Carboxygruppe umfasst, zur Verfügung gestellt, das umfasst, dass man das basische Peptid in Form der freien Base oder in Form eines Salzes mit einer schwachen Säure, zum Beispiel Essigsäure, und den Polyester mit endständiger Carboxygruppe in einem neutralen, polaren Lösungsmittel löst, in dem beide löslich sind, das Lösungsmittel oder den grössten Teil des Lösungsmittels entfernt und die verbleibende konzentrierte Lösung zu einem Überschuss eines Nicht-Lösungsmittels für das Peptid-Polyester-Salz zugibt.

Die zweite Lösung, auch basierend auf der Verwendung eines Lösungsmittels, das sowohl das Peptid als auch den Polyester löst, beruht darauf, dass dieses Lösungsmittel durch Frieren und übliches Gefriertrocknen oder durch Sprühtrocknen entfernt werden kann. Ein wesentlicher Teil dieses Verfahrens ist die Entfernung des Lösungsmittels aus der Peptid-Polyester-Mischung in einer extrem schnellen, fast sofortigen Rate und vorzugsweise bei einer Temperatur, die unter der Glasübergangstemperatur des Polyesters und des Peptids liegt. In diesem Fall kann das Lösungsmittel neutral oder sauer sein und ein bevorzugtes Lösungsmittel ist Essigsäure.

Eine derart extrem schnelle Entfernung des Lösungsmittels aus einer Lösung, die zu einem gewissen Grad ein viskoses Fließverhalten oder viskoelastisches Verhalten zeigt, führt zu einer Phasentrennung der zwei inkompatiblen Makromolekülarten, die in einem extrem geringen kolloidalen Massstab auftritt. Das bedeutet, dass die entstehende Peptid-Polyester-Mischung eine extrem hohe Oberfläche und Oberflächenenergie hat. Als Konsequenz wird, wenn ein anderes Lösungsmittel für den Polyester, das normalerweise ein Nichtlösungsmittel für das Peptid ist, zu der im wesentlichen lösungsmittelfreien Peptid-Polyester-Mischung dieser Art zugegeben wird, die hohe Oberflächenenergie durch die Salzbildung und das Verschwinden des kolloidalen Zustands des Peptids in dem Polyester verteilt. Geeignete Lösungsmittel für diese zweite Lösung müssen gefriertrockenbar sein und schliessen Essigsäure, Dioxan/Wasser-Mischungen und tert.-Butanol/Wasser-Mischungen ein, sind aber nicht darauf bechränkt, oder müssen sprühtrockenbar sein.

Somit wird gemäss einem weiteren Merkmal der Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Salzes, das ein basisches Peptid und einen Polyester mit endständigen Carboxygruppen umfasst, zur Verfügung gestellt, das umfasst, dass man das basische Peptid in Form der freien Base oder in Form eines Salzes mit einer schwachen Säure, zum Beispiel Essigsäure, und den Polyester mit endständiger Carboxygruppe in einem Lösungsmittel löst, in dem beide löslich sind und das durch Gefriertrocknen entfernt werden kann, die entstehende Lösung mit hoher Geschwindigkeit einfriert, die entstehende gefrorene Mischung gefriertrocknet, die entstehende Mischung in einem Lösungsmittel für die Polyesterkomponente dispergiert und die Mischung sich lösen lässt, wenn das Peptid-Polyester-Salz gebildet wird.

Genauer wird bei diesem Verfahren die Lösung des Peptids und der Polymilchsäure oder eines Copolymers von Milch- und Glykolsäure in Essigsäure zu flüssigem Stickstoff tropfenweise zugegeben. Dies führt zu einem mehr oder weniger sofortigen Frieren der Essigsäurelösung und einer mehr oder weniger sofortigen Erzeugung einer im wesentlichen lösungsmittelfreien Peptid-Polyester-Mischung. Das Gefriertrocknen zur Entfernung des Essigsäurelösungsmittels ergibt ein Peptid-Polyester-Produkt, das in einem extrem feinen kolloidalen Massstab gemischt ist. Für viele Peptide zeigt sich die kolloidale Natur des Materials, wenn ein Lösungsmittel für den Polyester zugegeben wird, zum Beispiel Dichlormethan, wenn eine extrem feine kolloidale Suspension erzeugt wird und vorausgesetzt, es ist ein Überschuss an Carbonsäurefunktionen in der Mischung vorhanden, eine klare Lösung, gegebenenfalls beim Stehen, erhalten werden kann, wobei die überschüssige Oberflächenenergie verloren geht, wenn sich das Peptid-Polyester-Salz bildet. Andere Verfahren, um die Peptid-Polyester-Essigsäure-Mischung mehr oder weniger sofort einzufrieren, können verwendet werden anstelle der tropfenweisen Zugabe zu flüssigem Stickstoff, zum Beispiel das Eintropfen der Mischung in eine Mischung aus festem Kohlendioxid und Hexan.

Hypothetisch kann natürlich eine vollständig unlösliche Verbindung löslich gemacht werden, wenn sie auf eine ausreichend kleine durchschnittliche Teilchengrösse verkleinert werden kann. Es wird angenommen, dass das Teilchen eine Kugel mit Radius  $r$ , mit einer Dichte  $\sigma$  ist und dass sie eine Oberflächenenergie  $\gamma$  hat, so dass das Teilchen eine Oberflächenenergie von  $4\pi r^2\gamma$  hat. Es wird auch eine Masse von  $4/3\pi r^3\sigma$  haben und damit wird die Oberflächenenergie pro Masseneinheit  $3\pi\gamma/\sigma$  sein. Es werden nun zwei Fälle von gesättigten Lösungen angenommen:

(i) wenn der überschüssige Feststoff extrem grob ist und daher eine sehr geringe Oberflächenenergie hat und die gesättigte Lösung eine Konzentration  $C_s$  hat. Dann ist die freie Gibbs-Energie:

$$G^{\text{Lösung}} = G_0 + RT \ln C_s = G^{\text{Feststoff}};$$

(ii) wenn der überschüssige Feststoff in Form extrem kleiner Teilchen vom Radius  $r$  vorliegt, ist die freie Gibbs-Energie der Lösung, die im Gleichgewicht mit den extrem kleinen Teilchen steht:

$$G^2_{\text{Lösung}} = G_0 + RT \ln C;$$

aber in diesem Fall hat der Feststoff eine freie Gibbs-Energie von

$$5 \quad G^1_{\text{Feststoff}} + 3\pi r/\sigma, \text{ und}$$

$$G^2_{\text{Lösung}} = G_0 + RT \ln C = G^1_{\text{Feststoff}} + 3\pi r/\sigma, \text{ oder}$$

$$G^1_{\text{Feststoff}} = G_0 + RT \ln C - 3\pi r/\sigma.$$

10

Aber aus (i) oben ergibt sich

$$G^1_{\text{Feststoff}} = G_0 + RT \ln C_s \text{ und daher}$$

15

$$G_0 + RT \ln C - 3\pi r/\sigma = G_0 + RT \ln C_s \text{ oder}$$

$$C = C_s \cdot e^{3\pi r/\sigma}$$

so dass dann, wenn  $r$  abnimmt,  $C$  (hypothetisch) zunimmt.

20

Im üblichen Fall ist eine höhere als die normale Löslichkeit aufgrund geringer Teilchengrösse metastabil und die Teilchen wachsen in der Grösse, zum Beispiel durch Auflösen und Umkristallisieren, so dass die Wirkung einer hohen Oberflächenenergie negiert wird. Jedoch kann bei Peptid-Polyester-Mischungen mit kleiner Teilchengrösse eine Salzbildung auftreten und dies bietet ein alternatives Mittel, um die Oberflächenenergie der kolloidalen Teilchen zu vermindern, indem die Bildung eines löslichen amphipatischen Salzes zugelassen wird, das als Lösung den Zustand der geringsten freien Energie bietet.

25

Gemäss einem weiteren Merkmal der Erfindung wird ein Verfahren zur Herstellung eines Salzes, das ein basisches Peptid und einen Polyester mit endständiger Carboxygruppe umfasst, zur Verfügung gestellt, das umfasst, dass man ein basisches Peptid in der Form eines Salzes mit einer starken Säure, zum Beispiel als Chlorid oder Sulfat, mit einem Polyester umsetzt, wobei ein Teil oder der gesamte Polyester in Form eines Carbonsäuresalzes mit einem geeigneten Alkalimetall oder Erdalkalimetall, zum Beispiel als Natrium-, Kalium-, Calcium- oder Magnesiumcarboxylatsalz, vorhanden ist. Für Polyester mit geringem Molekulargewicht (mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von weniger als etwa 10.000) können die Alkalisalze in Wasser gelöst oder sehr fein dispergiert werden. Die Zugabe einer solchen Lösung oder Dispersion zu einer wässrigen Lösung (vorzugsweise kohlendioxidfrei) des Peptids führt zur Ausfällung des wasserunlöslichen amphipatischen Peptid-Polyester-Salzes.

30

In ähnlicher Weise sind die Chlorid- oder Sulfatsalze von «pegylierten» basischen Peptiden (Polyoxyethylenkonjugaten von Peptiden) teilweise kompatibel mit oder löslich in Lösungsmitteln wie Dichlormethan oder können es sein, und die Natrium- oder Kaliumsalze von Polyestern mit endständigen Carboxygruppen können auch in Dichlormethan löslich sein. Wenn somit zwei derartige Salze in den geeigneten Anteilen vermischt werden, wird das lösliche Peptid-Polyester-Salz durch doppelte Zersetzung erzeugt, wobei das Alkalichlorid oder -sulfat ausfällt.

40

Die thermodynamische Inkompatibilität verschiedener Makromoleküle, auf die oben Bezug genommen wurde, ist seit vielen Jahren bekannt, wurde aber selten im Stand der Technik für Peptidarzneimittel mit Depotwirkung aus Polyester matrices in Betracht gezogen. Eine notwendige Konsequenz dieser thermodynamischen Inkompatibilität oder Unlöslichkeit ist es, dass unter normalen Umständen Polyester vollständig undurchlässig für Peptidarzneimittel sind. Damit eine verteilungsabhängige Fick'sche Diffusion eines Peptidarzneimittels durch einen Polyester auftritt, muss das Peptid eine gewisse Löslichkeit in dem Polyester haben. Jedoch ist dies aus den oben diskutierten Gründen nicht der Fall und daher ist der Transport des Peptids durch den Polyester durch eine verteilungsabhängige Fick'sche Diffusion unmöglich.

50

Selbst wenn aus Argumentationsgründen das Peptidarzneimittel oder eines seiner synthetischen Analoga eine geringe Löslichkeit in dem Polyester oder eine gewisse Kompatibilität mit dem Polyester hätte, wäre der Transport durch Diffusion durch die Polyesterphase immer noch unmöglich. Es wurde vor langer Zeit erkannt, dass das freie Volumen in dem Polyester, das sich durch Rotations- und Translationsmobilität des Polyestersegmentes ergibt und das die Passage diffundierender Moleküle zulassen würde, nicht ausreichend gross ist, um die Diffusion von Makromolekülen mit Molekulargewichten von mehr als etwa 500 u zu ermöglichen. (Siehe zum Beispiel R.W. Baker und H.K. Lonsdale, «Controlled Release: Mechanisms and Rates» in «Controlled Release of Biologically Active Agents», herausgegeben von A.C. Tanquary und R.E. Lacey, Plenum Press, 1974, 15 ff.)

55

Obwohl jedoch ein Transport eines Peptidarzneimittels durch einen Polyester durch Fick'sche Diffusion im wesentlichen unmöglich ist für Peptide von mehr als etwa 500 u wurde nichtsdestotrotz eine kontinuierliche Freisetzung von Polypeptiden erreicht. Das Europäische Patent Nr. 58 481 offenbart, wie eine kontinuierliche Freisetzung eines Peptidarzneimittels aus einem Polyester erhalten wurde, indem die sehr verschiedenen Eigenschaften der zwei Makromoleküle verwendet wurden, wobei Peptide hydrophil und wasserlöslich und Polyester hydrophob und wasserunlöslich sind. In den in diesem Patent

65

beschriebenen Präparaten wurde die Peptidarzneimittelfreisetzung hauptsächlich über wässrige Poren erreicht, die anfangs durch einfaches Auslaugen des Peptids aus Bereichen der Oberfläche der Formulierung erzeugt wurden oder aus Bereichen des Peptidarzneimittels, die kontinuierlich mit oder angrenzend an die Oberfläche des Präparates waren. Dieses Auslaugen liefert eine anfängliche Freisetzungsphase und der anschliessende hauptsächlich hydrolytische Abbau des Polyesters führt zur Erzeugung weiterer Poren innerhalb des Polyesters und somit kann eine weitere Peptidfreisetzung auftreten, die durch Abbau und Erosion geregelt wird. Wenn die durch den hydrolytischen Polyesterabbau sich ergebenden Poren nicht schnell genug auftreten, ist die anfängliche Freisetzung der Auslaugphase abgeschlossen, bevor eine ausreichende Anzahl durch den Abbau induzierter Poren in dem Abgabesystem erzeugt wurde, und es wird eine diskontinuierliche Freisetzung des Peptids erreicht. Die Parameter der in EP 58 481 offenbarten Präparate wurden daher so ausgewählt, dass der hydrolytische Abbau des Polyesters zur richtigen Zeit in bezug auf die anfängliche auslaugende Freisetzungsphase auftrat, um so sicherzustellen, dass sich die zwei Phasen der Freisetzung überlappten, was zu einer kontinuierlichen Freisetzung des Peptidarzneimittels führte.

Während jedoch ein Fick'scher Diffusionstransport eines Peptids durch die Polyesterphase im Fall solch einfacher Peptid-Polyester-Mischungen unmöglich ist, ergibt sich eine vollständig andere Situation im Fall von Präparaten der erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Salze, gegebenenfalls in Gegenwart des freien Polymers. Bei Präparaten, die diese Materialien enthalten, gibt es keine getrennte Phase, die aus Polyester alleine besteht, vielmehr ist die kontinuierliche Phase, die die Freisetzung des Peptids kontrolliert, vollständig oder teilweise das Peptid-Polyester-Salz. Das freie Peptid hat eine gewisse Löslichkeit in dieser Phase des Peptid-Polyester-Salzes und daher ist bei Präparaten, die solche Materialien verwenden, eine echte Fick'sche verteilungsabhängige Diffusion eines Peptids möglich, wenn die anderen Erfordernisse, zum Beispiel ein wirksames freies Volumen, vorhanden sind.

Da das Peptid-Polyester-Salz ein stark hydrophiles Segment enthält, hat das Peptid-Polyester-Salz-Präparat eine viel höhere Wasseraufnahme als Polyester allein. Ausserdem ist bei diesen Präparaten die Wasseraufnahme noch weiter verbessert aufgrund der ionischen Art der Peptid-Polyester-Wechselwirkung und der Solvatation von Ionen oder Ionenpaaren in dem makromolekularen Salz durch Wasser. Dies macht das Peptid-Polyester-Salz im wesentlichen hydrogelartig und liefert einen Anstieg des Mobilitätsgrades der Makromolekülsegmente in dem Polykation-Polyanion-Komplex. Das bedeutet, dass das effektive freie Volumen des Matrixmaterials erhöht wird und so ein makromolekulares Peptid aufnehmen kann.

Der Nutzeffekt dieser Eigenschaften des Peptid-Polyester-Salzes (gegebenenfalls in Anwesenheit eines freien Polymers) liegt darin, dass der Fick'sche Diffusionstransport eines makromolekularen Peptids durch die Matrix eines Peptid-Polyester-Salzes oder der gemischten Phase aus Salz und freiem Polymer möglich ist. Dies ist eine vollständig andere Situation als die, die mit Polyester alleine auftritt oder mit einfachen Mischungen von Peptiden und Polyestern und daher sind Matrices oder Membranen mit Depotwirkung auf Basis einer erhöhten Durchlässigkeit, die sich durch Verwendung des Peptid-Polyester-Salzes ergibt, wesentlich für die Präparate mit kontrollierter Freisetzung von Peptiden, die im folgenden in der Anmeldung beschrieben werden.

Die erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Salze liefern somit neue und unerwartete Vorteile bei der Entwicklung von parenteralen Arzneimittelabgabesystemen auf Basis von Lösungen oder Dispersionen unter Verwendung verschiedener Mischungen von freien Peptidarzneimitteln, freien Polyestern und Peptid-Polyester-Salzen sowohl in wässrigen als auch nicht-wässrigen pharmazeutisch annehmbaren Injektionsträgern und auf Basis von subdermalen Implantaten, die intramuskulär oder subkutan injiziert oder implantiert werden können aufgrund der neuen und unerwarteten Löslichkeit dieser peptidhaltigen Anteile in lipophilen Lösungsmitteln. Ausserdem können Präparate auf Basis dieser Peptid-Polyester-Salze, insbesondere solcher mit stark lipophilen Polyestern, auch auf anderen Wegen verabreicht werden. Von besonderer Bedeutung ist der orale Weg, für den die verschiedenen Kombinationen von Peptid-Polyester-Salz und/oder freiem Peptidarzneimittel und/oder freiem Polyester mit guter Wirkung verwendet werden können. In vielen Fällen ist es für die orale Verabreichung bevorzugt, einen pharmazeutisch annehmbaren Träger zu verwenden, zum Beispiel ein pflanzliches Öl oder eine Variante davon, und Mono-, Di- und Triglyceride entweder allein oder in Mischung mit anderen Ölen. Von geringerer Bedeutung sind topische, rektale und intranasale Verabreichungswege.

Ausser dem Europäischen Patent Nr. 58 481 (1982), auf das oben Bezug genommen wurde, sind Lawter et al. (siehe oben) und Okada et al. (siehe oben) der einzige Stand der Technik, der den Anmeldern bekannt ist, der sich auf die Möglichkeit bezieht, Peptid-Polyester-Salze zu erhalten, aber diese beiden Veröffentlichungen sind spekulativ, da sie nicht offenbaren, wie diese vermeintliche Wechselwirkung realisiert oder verwendet werden kann. Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Präparate mit Depotwirkung bereitzustellen, die verschiedene Kombinationen von Peptid-Polyester-Salz und/oder freiem Peptidarzneimittel und/oder freiem Polyester in verschiedenen Anteilen umfassen, was mindestens drei verschiedene Profile der kontrollierten Arzneimittelfreisetzung ergibt.

Somit wird gemäss einem weiteren Merkmal der Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung mit Depotwirkung zur Verfügung gestellt, die ein Peptid-Polyester-Salz, wie oben definiert, und/oder ein freies Peptidarzneimittel und/oder einen freien Polyester und gegebenenfalls einen anderen pharmazeutischen Hilfsstoff oder andere pharmazeutische Hilfsstoffe umfasst.

Die Entwicklung der erfindungsgemässen pharmazeutischen Zusammensetzungen basierte auf den folgenden Überlegungen. Während ein einfaches Peptidarzneimittel normalerweise in Wasser löslich ist, sind sowohl sein Salz mit einem Polyester als auch der freie Polyester selbst normalerweise vollständig wasserunlöslich (obwohl es anerkannt ist, dass sehr wenig oligomere Formen von Polyestern und Copolyestern, obwohl sie selbst wasserunlöslich sein können, in Form eines Peptid-Polyester-Salzes wasserlöslich sein können). Jedoch führt die Inkubation einer Mischung eines Peptidarzneimittels und eines Polyesters, worin das gesamte Peptid oder ein Teil des Peptids als Peptid-Polyester-Salz vorhanden ist, in wässrigen physiologischen Flüssigkeiten zu einem gewissen Abbau des Polyesters. Wenn diese abgebauten Produkte wasserunlöslich sind, dann bleibt das abbauende Peptid-Polyester-Salz unlöslich. Wenn andererseits der Polyester anfangs ein ausreichend geringes Molekulargewicht hat oder eine Polymerkomponente mit gleichem oder ähnlich niedrigem Molekulargewicht enthält, sodass diese wasserlöslichen von Polyester stammenden sauren Fragmente erzeugt werden, dann werden diese Fragmente (als Anionen) mit dem Polypeptidkation zusammen transportierbar. Es wurde nun für die neuen Peptid-Polyester-Salz-Zusammensetzungen der Erfindung gezeigt, dass die Schnelligkeit der Freisetzung stark abhängt von dem Molekulargewicht und der Molekulargewichtsverteilung der Polyesterkomponente.

Die Molekulargewichtsverteilung wird definiert als

$$\frac{M_w}{M_n}$$

$$\text{worin } M_w \text{ (gewichtsmittleres Molekulargewicht)} = \frac{\sum w_i \cdot M_i}{\sum w_i} = \frac{\sum n_i \cdot M_i^2}{\sum n_i \cdot M_i}$$

$$\text{und } M_n \text{ (zahlenmittleres Molekulargewicht)} = \frac{\sum n_i \cdot M_i}{\sum n_i}$$

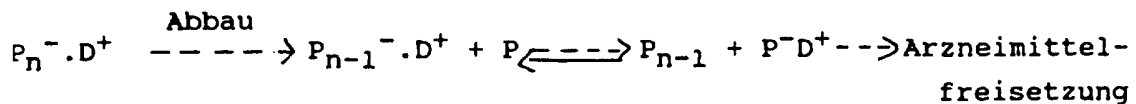
und worin  $w_i$  die Gewichtsfraktion von Polymermolekülen mit einem Molekulargewicht  $M_i$  ist und  $n_i$  die Anzahl von Polymermolekülen mit einem Molekulargewicht  $M_i$  ist.

Die Molekulargewichtsverteilung wird oft als Polydispersität bezeichnet und die verschiedenen Werte für enge, normale oder höchstwahrscheinliche und weite Verteilungen sind wohlbekannt (siehe zum Beispiel «Polymer Handbook», 2. Ausgabe, J. Wiley 1975, IV-3). Es ist allgemein anerkannt, dass eine Polydispersität von weniger als 1,8 eine enge Verteilung oder geringe Polydispersität, von ungefähr 1,8 bis 2,2 eine normale oder höchstwahrscheinliche Verteilung oder normale Polydispersität und von mehr als ungefähr 2,2 eine breite Verteilung oder hohe Polydispersität ist.

Für die Verabreichung von Peptidarzneimitteln auf dem parenteralen Weg, zum Beispiel durch intramuskuläre oder subkutane Injektion oder subdermale Implantation eines Depot- oder Abgabesystems, sind Polyester mit einem zahlenmittleren Molekulargewicht von mehr als 2.000 u oder einer Eigenviskosität bei 1% G/V bei 25°C in Chloroform von  $\geq 0,08$  dl/g und bis zu und einschliesslich von 4,0 dl/g bevorzugt. Für die Verabreichung auf anderen Wegen, zum Beispiel oral, ist der bevorzugte Bereich für das zahlenmittlere Molekulargewicht 500 bis 5.000 u.

Aus den obigen Betrachtungen, die grossteils im Stand der Technik ausser acht gelassen wurden, ergibt sich, dass der Abbau der Polyester, insbesondere in Gegenwart von basischem Peptid, der zu einer nur geringen Fraktion wasserlöslicher Fragmente führt, und das Zeitintervall, während dem er auftritt, durch Molekulargewicht und Molekulargewichtsverteilung kontrolliert werden. Ein im wesentlichen sofortiger Abbau wasserlöslicher Fragmente tritt auf bei Verwendung von Polyester sowohl mit enger als auch normaler Verteilung, mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von weniger als etwa 10.000 Da bzw. weniger als etwa 15.000 u (abhängig von der Art der Molekulargewichtsverteilung), jedoch ist im allgemeinen die Polydispersität des Polyesters um so geringer, je geringer das gewichtsmittlere Molekulargewicht ist, das für den sofortigen Abbau wasserlöslicher Fragmente erforderlich ist. Für Polyester mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von mehr als 15.000 Da ist eine normale oder breite Verteilung erforderlich. Wiederum hängt dies teilweise von der Art der Molekulargewichtsverteilung ab, aber im allgemeinen ist die erforderliche Polydispersität um so höher, je höher das gewichtsmittlere Molekulargewicht ist, um einen frühen Abbau zu wasserlöslichen Fragmenten zu erreichen.

Für Polyester oder Copolyester und Peptidzusammensetzungen, bei denen ein Teil oder das gesamte Peptid in Form eines Peptid-Polyester-Salzes ist, das gegebenenfalls freien Polyester enthält, können drei verschiedene Freisetzungsprofile erhalten werden. Das erste davon ergibt sich, wenn der Abbau des Polyesters im wesentlichen eine sofortige Erzeugung saurer wasserlöslicher oder hydrophiler Fragmente liefert, was zu einer sofortigen Freisetzung des Peptids gemäss dem folgenden Mechanismus führt:



<p>5 Polymer/Arzneimittel-Salz, das vollständig unlöslich in Wasser ist</p>	<p>wobei P ein abgebautes wasserlösliches oder hydrophiles Fragment ist, aber <math>P_{n-1}^- D^+</math> wasserunlöslich ist</p>	<p>wobei <math>P^- D^+</math> eine wasserlösliche Arzneimitelart ist und <math>P_{n-1}</math> ein wasserunlösliches abgebautes Polymer ist</p>
---	--	--

(P = wasserlösliches abgebautes Polyesterfragment oder hydrophiles wasserunlösliches abgebautes Polyesterfragment, das wasserlöslich wird, wenn es in Form eines Salzes mit dem basischen Peptid vorhanden ist.  
 D = basisches Peptid.)

In diesem ersten Fall kann die Zusammensetzung entweder das gesamte Arzneimittel als Peptid-Polyester-Salz enthalten oder sie kann einen Teil freies, ungebundenes Arzneimittel zusätzlich zu einem Teil Peptid-Polyester-Salz enthalten, wobei in beiden Fällen gegebenenfalls freies Polymer vorhanden ist. Jedoch wird das Polymer in Gegenwart des Peptids fast sofort zu wasserlöslichen Fragmenten abgebaut mit der Konsequenz, dass fast sofort die anhaltende kontinuierliche Freisetzung des Peptids beginnt. Es ist anzumerken, dass die Diffusion des freien wasserlöslichen Peptids durch die sich abbauende Zusammensetzung erleichtert wird durch die erhöhte Permeabilität der Matrix aufgrund der Gegenwart des Peptid-Polyester-Salzes in der kontinuierlichen Phase, das die Freisetzung moduliert.

Der zweite dieser Fälle ergibt sich, wenn das gesamte Peptidarzneimittel als Peptid-Polyester-Salz vorhanden ist (gegebenenfalls in Gegenwart des freien Polyesters), aber der Polyester nicht sofort zu wasserlöslichen Fragmenten abgebaut wird. Dies führt zu einem Anfangsintervall, in dem keine Freisetzung des Peptidarzneimittels stattfindet. Obwohl das Peptid-Polyester-Salz der Matrix eine erhöhte Permeabilität für das freie diffundierende Peptid vermittelt, ist kein freies Peptidarzneimittel zugänglich für die Diffusion. Das gesamte Peptid ist in Form eines wasserunlöslichen Peptid-Polyester-Salzes und erst nach einer beträchtlichen Zeit wird der Polyester zu wasserlöslichen Fragmenten abgebaut und liefert freies und transportierbares Arzneimittel. Dies führt zu einer verlängerten Induktionsperiode, während der anfänglich keine Peptidfreisetzung erfolgt, und nach der Induktionsperiode die Freisetzung beginnt. Dieser zweite Fall ist ideal für eine zeitlich festgelegte und pulsformige Freisetzung löslicher Impfstoffe und Peptide.

Der dritte Fall ergibt sich, wenn ein Präparat, auf Basis eines Peptid-Polyester-Arzneimittelsystems, das ein Peptidarzneimittel sowohl in freier Form als auch in Form eines Polymerarzneimittelsalzes enthält, gegebenenfalls auch in Gegenwart von freiem Polyester, wobei der Polyester ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von mehr als etwa 15.000 u hat (und vorzugsweise von mehr als etwa 30.000 u) mit einer engen oder höchstwahrscheinlichen Molekulargewichtsverteilung, in eine physiologische Umgebung gebracht wird, wie sie sich an intramuskulären und subkutanen Injektionsstellen befindet, wobei eine diskontinuierliche Freisetzung auftreten kann. Eine erste Phase der Freisetzung ergibt sich durch die Gegenwart von freiem Peptidarzneimittel und der Fähigkeit, durch das durchlässigere Peptid-Polyester-Salz-System transportiert zu werden. Wenn diese erste Phase der Freisetzung des freien Peptidarzneimittels abgeschlossen ist, bevor der Abbau des Polyesters in dem Peptid-Polyester-Salz auftritt, was weiteres freies Peptidarzneimittel liefert, dann ergibt sich eine diskontinuierliche Peptidarzneimittelfreisetzung.

Offensichtlich wird eine kontinuierliche Freisetzung erhalten, wenn es kein Intervall gibt, in dem freies Peptidarzneimittel nicht in der Zusammensetzung vorhanden ist während des Abbaus. Dieses Freisetzungsprofil ist ähnlich dem in dem Europäischen Patent Nr. 58 481 offenbart, aber der Mechanismus der Freisetzung in dem Europäischen Patent Nr. 58 481 und die verwendeten Materialien (kein Peptid-Polyester-Salz) sind völlig verschieden von den Mechanismen und Materialien, die erfindungsgemäss bestimmt werden. Abhängig von dem Freisetzungsprofil sind diese Mischungen ideal für die kontinuierliche Freisetzung von Peptiden, Proteinen und löslichen Impfstoffen.

Wie oben angegeben, sind diese Peptid-Polyester-Arzneimittel-Salzsyste, ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften und die Mechanismen, mit denen die Freisetzung des Peptids auftritt, völlig verschieden von denen in den Europäischen Patenten Nr. 58 481 und 52 510 offenbart und von allen anderen Veröffentlichungen, die sich auf die Peptidfreisetzung aus Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäure beziehen, die den Erfindern bekannt sind. Von diesen nehmen nur das Europäische Patent Nr. 58 481, Lawter et al. (siehe oben) und Okada et al. (siehe oben) Bezug auf die Salzbildung, die sich durch die ionische Wechselwirkung von Polyester-carbonsäuregruppen und basischen Aminosäuren in Peptiden ergibt, aber die darin beschriebenen Zusammensetzungen enthalten kein Peptidarzneimittel-Polyester-Salz. Diese früheren Offenbarungen sind jedoch in dieser Hinsicht spekulativ und beweisen nicht schlüssig, dass solche Wechselwirkungen tatsächlich auftreten, noch zeigen sie, wie sol-

che Peptid-Polyester-Salze hergestellt und isoliert werden können und dann verwendet werden können, um die Freisetzung von Peptiden zu bewirken, mit einer Vielzahl von verschiedenen Profilen der Freisetzung aufgrund der unerwarteten Löslichkeit in lipophilen organischen Lösungsmitteln.

5 Eigenschaften von Peptid-Polyester-Mischungen, die die Freisetzung bestimmen und die bisher nicht erwähnt wurden, sind die Anzahl basischer funktioneller Gruppen in dem Peptid und die Anzahl von Carbonsäuregruppen in dem Polyester. Die oben erwähnten Veröffentlichungen schweigen auch im Hinblick auf bemerkenswerte und unerwartete Wirkungen, die sich durch die Verwendung von Peptid-Polyester-Salzen ergeben, und in bezug auf die überraschend hohe Permeabilität von Systemen, die insgesamt oder teilweise das Peptid-Polyester-Salz enthalten, verglichen mit der Permeabilität des Polyesters alleine oder von Mischungen, in denen die zwei Komponenten einfach vermischt sind und die daher kein Peptid-Polyester-Salz enthalten.

10 Dieser Unterschied in der Permeabilität kann gezeigt werden in einfachen Diffusionszelleexperimenten, wobei eine kontinuierliche und fehlerfreie Polyestermembran, die zwei wässrige Kompartimente trennt, wobei eines eine wässrige Peptidlösung und das andere die wässrige Phase allein enthält, keinen Peptidtransport durch sie hindurch zulässt, vor einem wesentlichen Abbau des Polyesters der Membran. Im Gegensatz dazu lassen Membranen, die teilweise oder insgesamt das Peptid-Polyester-Salz enthalten, einen Arzneimitteltransport, durch die salzhaltige Membran hindurch, zu, durch verteilungsabhängige Diffusion, auch wenn das Peptid ein Molekulargewicht von mehr als 500 u hat.

15 Die erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Salze haben viele andere überraschende und nützliche vorteilhafte Eigenschaften, die für ähnliche Materialien des Standes der Technik unbekannt sind, die besonders geeignet sind für die Entwicklung und Herstellung von pharmazeutischen Abgabesystemen. Eine der nützlichsten Eigenschaften ist die gute Löslichkeit des Peptids, wenn es in Form eines Polyester-salzes ist, in organischen Lösungsmitteln, in denen Peptide normalerweise völlig unlöslich sind. Dies bietet sehr viele Vorteile bei der pharmazeutischen Herstellung, da es neue Verfahren und Vorgehensweisen zulässt, die verwendet werden für die Herstellung von Arzneimittelabgabesystemen und insbesondere die aseptische Herstellung erleichtert. Diese Verfahren und Vorgehensweisen und die verwendeten Materialien sind völlig verschieden von den Verfahren und Materialien, die im Stand der Technik offenbart werden.

20 Somit können Lösungen eines Peptid-Polyester-Salzes, das gegebenenfalls freies Polymer und/oder freies Peptid enthält, in einer solubilisierten oder dispergierten Form, steril filtriert werden, was die Probleme, die normalerweise mit der sterilen Herstellung von festen oder Suspensionspeptidformulierungen verbunden sind, erleichtert. Eine steril filtrierte Lösung eines Peptid-Polyester-Salzes kann daher einer Vielzahl pharmazeutischer Trocknungsverfahren in einer aseptischen Umgebung unterzogen werden. Sprühtrocknen, Sprühgefrieren und andere Trocknungsverfahren, die feste Teilchen erzeugen, sind bevorzugte Verfahren, die leicht aseptisch betrieben werden können.

25 Besonders geeignet ist die Erzeugung von Mikroteilchen mit Teilchengrößen in dem Bereich von 0,2  $\mu\text{m}$  bis 500  $\mu\text{m}$ , die in einem pharmazeutisch annehmbaren Injektionsträger suspendiert werden können. Solche Mikroteilchen können in einem wässrigen Injektionsträger vor der Verwendung suspendiert werden oder alternativ in einem organischen Injektionsträger, der ein Nichtlösungsmittel für die verwendeten Materialien ist. Für Abgabesysteme auf Basis von Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäure sind solche geeigneten organischen Träger stark lipophile Öle, wie zum Beispiel (aber nicht beschränkt auf) Ethyloläat, Isopropylmyristat, pflanzliche Öle und verschiedene Fettglyceride. Unter bestimmten Umständen ist es bevorzugt, Mischungen solcher lipophilen Träger zu verwenden.

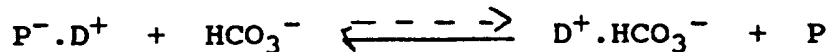
30 Obwohl solche lipophilen Träger Nichtlösungsmittel für Abgabeformen auf Basis von Milch- und Glykolsäure sind, sind sie ungeeignet zur Verwendung für stark lipophile Polyester, wie zum Beispiel solche auf Basis von langkettigen Hydroxysäuren, zum Beispiel Hydroxystearinsäuren. Für solche stark lipophilen Polyester oder Copolyester sind hydrophile organische Injektionsträger bevorzugt, wie zum Beispiel (aber nicht beschränkt auf) Propylenglykol und Polyethylenglykol mit niedrigem Molekulargewicht. Offensichtlich sind wässrige Injektionsträger auch geeignet für Abgabesysteme auf Basis von lipophileren Polymeren.

35 Ein alternatives Mittel zur Herstellung von Mikroteilchen ist die Verwendung einer anderen unerwarteten und vorteilhaften Eigenschaft der Peptid-Polyester-Salze der Erfindung. Das Peptid-Polyester-Salz wird aufgebaut aus einem hydrophilen Peptid, für das thermodynamisch bevorzugt wäre, in einer wässrigen oder polaren Umgebung oder Phase zu existieren oder gelöst zu sein, und einer Polyesterkette, die hydrophob ist und für die thermodynamisch bevorzugt wäre, in einer hydrophoben Phase gelöst zu sein. D.h., dass das Peptid-Polyester-Salz amphipatisch ist und oberflächenaktive Eigenschaften hat, die einfache Peptidsalze nicht aufweisen. Diese Oberflächenaktivität führt dazu, dass das Peptid-Polyester-Salz bevorzugt an einer Phasengrenzfläche existiert und wegen der allgemeinen Art des Salzes (Verhältnis und Länge der hydrophoben Kette) ist die thermodynamisch stabilste Art der Dispersion in einer stark wässrigen Phase für das Peptid-Polyester-Salz, in einer Dispersion in Wasser zu existieren (da die kritische Micellkonzentration sehr gering ist und nicht das gesamte Salz an der Grenzfläche vorhanden sein kann in vielen Fällen).

40 Es zeigt sich daher, dass das Peptid-Polyester-Salz ein extrem wirksames Dispersionsmittel zur Herstellung ebenso wie zur Aufrechterhaltung der Stabilität von wässrigen Dispersionen ist. Bei dieser zweiten Vorgehensweise zur Herstellung von mikroteilchenförmigen pharmazeutischen Formulierungen

wird die Peptid-Polyester-Lösung (d.h. zum Beispiel in Dichlormethan) einfach in einer wässrigen Phase dispergiert, die gegebenenfalls ein die Viskosität verbesserndes Polymer enthalten kann, wie zum Beispiel (aber nicht darauf beschränkt) Polyvinylalkohol, unter Verwendung der oberflächenaktiven Eigenschaften des Peptid-Polyester-Salzes. Obwohl einige organische Lösungen, die solche Peptid-Polyester-Salze enthalten, spontan dispergieren können, ist als allgemeine Regel etwas Bewegung oder Scherung erforderlich zur Herstellung der wässrigen Dispersion.

Ein weiterer bevorzugter Aspekt des Verfahrens, wie oben angegeben, ist es, die einzelnen Schritte so durchzuführen, dass die wässrige Dispersion wirksam in einer Inertatmosphäre ohne Kohlendioxid bleibt. Es ist weiter bevorzugt, dass die organische Lösung des Peptid-Polyester-Salzes frei von Kohlendioxid ist, da die Konzentration von Kohlendioxid in Luft und Wasser unter normalen Bedingungen ausreichend hoch ist im Vergleich zur Konzentration von Polyester-carbonsäuregruppen, um mit der Salzbildung zu konkurrieren aufgrund von Massenwirkungen gemäss der Gleichung:



worin P Polyester ist und D das Peptidarzneimittel ist. Die entstehenden wässrigen Dispersionen können dann mit einer Vielzahl von Techniken getrocknet werden, zum Beispiel durch Entfernung des organischen Lösungsmittels im Vakuum und anschliessendes Gefriertrocknen oder durch direktes Entfernen sowohl des Lösungsmittels als auch des Wassers in einer einzigen Gefriertrocknungsaktion. Das entstehende Produkt kann dann verwendet werden, um geeignete pharmazeutische Präparate zur Injektion in der oben beschriebenen Weise herzustellen.

Ein weiteres alternatives Mittel zur Herstellung von mikroteilchenförmigen pharmazeutischen Formulierungen besteht darin, eine im wesentlichen trockene Lösung des Peptid-Polyester-Salzes, die kolloidal dispergiertes freies Peptid enthält, in einem geeigneten organischen Lösungsmittel oder Träger zu verwenden. (Der Ausdruck «im wesentlichen trocken» wird verwendet, da es praktisch unmöglich ist, alle Spuren von Wasser aus dem Peptid zu entfernen und ausserdem bedeutet er, dass keines der Arzneimittel in Form einer wässrigen Lösung in einer getrennten wässrigen Phase existiert.) Die Zugabe eines Nichtlösungsmittels für das Polymer bei heftigem Rühren und die anschliessende Zugabe des im Lösungsmittel gequollenen Peptid-Polyester-Salzes (das gegebenenfalls freies Polymer und gegebenenfalls freies Arzneimittel enthält) zu einem grossen Volumen eines zweiten Nichtlösungsmittels, um die ausgefallenen Mikroteilchen weiter zu härten und zu stabilisieren, ergibt die endgültige Form. Offensichtlich kann unter den geeigneten Bedingungen oder in Gegenwart eines geeigneten oberflächenaktiven Mittels, wie zum Beispiel (aber nicht darauf beschränkt) Fettsäureestern von Sorbit, die Ausfällung der Mikroteilchen durchgeführt werden unter Verwendung nur eines Nichtlösungsmittels für den Polyester, zum Beispiel einem Paraffin wie Hexan.

Die mit den verschiedenen, hier beschriebenen Verfahren hergestellten Mikroteilchen sind strukturell völlig verschieden von den Mikrokapseln, die hergestellt werden gemäss den in den Europäischen Patenten Nr. 52 510 (Syntex) und 145 240 (Takeda) ausgeführten Verfahren, wobei die Peptide in einer Polyesterphase allein eingekapselt werden. Mikrokapseln sind definiert als ein oder mehrere Kerne einer Verbindung oder eines Materials innerhalb einer kontinuierlichen zweiten Phase, so dass eine kontinuierliche Beschichtung des Materials der zweiten Phase das Kernmaterial vollständig einschliesst oder mikroverkapselt, so dass nichts von diesem Material an der Oberfläche der Mikrokapsel vorhanden ist und das Material des mikroeingekapselten Kerns in jeder Hinsicht die physikalisch-chemischen und thermodynamischen Eigenschaften der nichteingekapselten Kernverbindung oder des nichteingekapselten Kernmaterials behält.

Somit wurde in dem Europäischen Patent Nr. 52 510 ein Phasentrennungscoacervierungsverfahren verwendet, um Tröpfchen einer wässrigen verdünnten Lösung des Peptids zu beschichten, so dass das Polymer alleine eine kontinuierliche Beschichtung rund um die wässrigen Tröpfchen bildete. D.h., dass dies richtige Mikrokapseln sind, die die Geometrie und Form von Mikrokugeln haben. Nach Isolieren der ausgefallenen Mikrokapseln und Härten und Trocknen wurde ein Produkt erhalten, in dem das Peptidarzneimittel als diskreter Kern oder in Form diskreter Kerne innerhalb einer Polymerumhüllung vorhanden ist. Wegen der Gegenwart von Wasser im Inneren der Mikrokapsel vor dem Trocknen kann seine Entfernung während des Dehydratisierungsverfahrens bei einer Temperatur, die unterhalb der Glasübergangstemperatur des Polymers liegt, zu einem Teilchen führen, das sehr porös ist. An keiner Stelle betrifft das Verfahren oder betreffen die Materialien, die in dem Europäischen Patent Nr. 52 510 verwendet oder beschrieben werden, ein Peptid-Polyester-Salz, noch lässt das offenbarte Verfahren eine Sterilfiltration einer Peptid-Polyester-Lösung oder -Suspension zu, wenn eine aseptische Herstellung erforderlich ist.

Weiterhin werden bei diesem früheren Patent spezifisch die Polyester auf Basis von Milch- und/oder Glykolsäure verwendet, die in US-Patent Nr. 3 773 919 (Boswell) beschrieben werden, die als benzollöslich bei 25°C beschrieben werden. Bei der vorliegenden Erfindung sind benzolonlösliche Polyester auf Basis von Milch- und/oder Glykolsäure, die aber löslich in Chloroform sind, bevorzugt wegen der relativ kurzen Abgabezeiträume, zum Beispiel weniger als zwei Monate.

In dem Europäischen Patent Nr. 190 833 (Takeda) wurde das Peptid als gelierte wässrige Lösung

des Arzneimittels eingeschlossen und die wässrige gelierte Phase wurde in einer Polymerlösung dispergiert. Diese Wasser(wässriges Arzneimittelgel)-in-Öl (Polymerlösung)-Dispersion wurde dann selbst unter Scherung in Wasser dispergiert, was eine Wasser-in-Öl-in-Wasser-Doppeldispersion ergab. Nach Entfernung des organischen Lösungsmittels im Vakuum und Lyophilisierung wurden Mikrokapseln erhalten, bei denen das Arzneimittel/Gelierungsmittel von dem Polymer allein eingekapselt war. Die Produkte dieses Verfahrens behalten das Arzneimittel als einfaches Salz und nicht als Polymersalz des Peptids. Die pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung haben daher Strukturen, physikalisch-chemische Eigenschaften und thermodynamische Eigenschaften, die vollständig verschieden sind von den Produkten, die in den Europäischen Patenten Nr. 52 510, 145 240 und 190 833 beschrieben werden, worin die Mikrokapseln die Form und Geometrie von Mikrokugeln haben, bei denen der Kern oder die Kerne aus Arzneimittel vollständig von dem Polymer alleine eingeschlossen sind.

Die Produkte der vorliegenden Anmeldung können auch die Geometrie und Form von Mikrokugeln haben (sind aber nicht darauf beschränkt), aber entweder sind sie nicht Mikrokapseln, wie oben definiert, sondern Lösungen von Peptid-Polyester-Salz (das gegebenenfalls auch freies Polymer enthält) oder sie sind Mikrokapseln, bei denen das freie Peptidarzneimittel in einer kontinuierlichen Phase oder Beschichtung des Polymerarzneimittelsalzes eingekapselt ist, das gegebenenfalls auch freies Polymer enthält. Wie oben angegeben, sind die Permeabilitätseigenschaften eines solchen Polymerarzneimittelsalzes vollständig verschieden von denen des freien Polymers alleine, daher geben die Produkte der vorliegenden Erfindung die Peptidarzneimittelbeladung in einer solchen Weise frei, die vollständig verschieden ist von der in den früheren Europäischen Patenten Nr. 52 510, 145 240 und 190 833 beschriebenen.

Somit ist eine weitere Ausführungsform der Erfindung die Herstellung entweder von Mikrokugeln, die keine Mikrokapseln sind, unter Verwendung einer Lösung des Peptid-Polyester-Salzes, das gegebenenfalls freies Polymer enthält, oder die Herstellung von Mikrokugeln, die Mikrokapseln sind, die aber freies Arzneimittel eingekapselt von einer Phase oder Beschichtung von Peptid-Polyester-Salz, das gegebenenfalls freies Polymer enthält, umfasst.

Solche Teilchen können mit einer Vielzahl verschiedener Verfahren hergestellt werden, zum Beispiel durch Ausfällung, Phasentrennung, Coacervierung, Sprühtrocknen und Sprühfrieren. Die bevorzugte Teilchengröße liegt im Bereich von 0,2 µm bis 500 µm und diese Teilchen können als Suspension in einem geeigneten Injektionsträger injiziert werden.

Besonders wirksame und geeignete parenterale pharmazeutische Formulierungen von Peptidarzneimitteln können auch in Form von Lösungen eines Arzneimittel-Polyester-Salzes hergestellt werden, das gegebenenfalls freies Polyester enthält und gegebenenfalls dispergiertes oder solubilisiertes freies Arzneimittel enthält, in einem pharmazeutisch annehmbaren organischen Lösungsmittel, das ein Lösungsmittel für den freien Polyester, aber ein Nichtlösungsmittel für Peptide und einfache Salze davon, wie zum Beispiel Chloride und Acetate, ist.

Somit wird erfindungsgemäss eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, die ein Peptidarzneimittel und einen Polyester umfasst, für die verlängerte Freisetzung des Peptidarzneimittels, die dadurch gekennzeichnet ist, dass die Zusammensetzung in Form einer Lösung ist, die umfasst:

- (a) ein basisches Peptidarzneimittel, wie vorher definiert, mit einem Molekulargewicht von mindestens 300 u und vorzugsweise mindestens 800 u, das in Form eines Salzes mit dem Polyester vorliegt, wobei das Salz ein Kation des basischen Peptids und ein Anion eines Polyesters mit endständigen Carboxygruppen umfasst,
- (b) ein pharmazeutisch annehmbares organisches Lösungsmittel, das ein Lösungsmittel für den freien Polyester, nicht aber ein Lösungsmittel für das freie Peptid ist,
- (c) einen Überschuss des Polyesters und gegebenenfalls
- (d) einen Überschuss des freien Peptidarzneimittels in einer solubilisierten oder kolloidal dispergierten Form.

Geeignete basische Peptide und Polyester mit endständigen Carboxygruppen sind die oben definierten und besonders bevorzugte Peptide sind die oben definierten LHRH-Analoga.

Polyester-Peptid-Arzneimittelsalze, bei denen der Polyester auf Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäuren basiert, schliessen geeignete pharmazeutisch annehmbare organische Lösungsmittel Benzylbenzoat, Benzylalkohol, Ethyllactat, Glycerintriacetat, Zitronensäureester und Polyethylenglykole mit niedrigem Molekulargewicht (< 1.000), Alkoxypolyethylenglykole und Polyethylenglykolacetate etc. ein, sind aber nicht darauf beschränkt, und von diesen sind Benzylbenzoat und Benzylalkohol bevorzugt und Benzylbenzoat ist besonders bevorzugt.

Das einzige Erfordernis für ein solches organisches Lösungsmittel ist es, dass es pharmazeutisch annehmbar ist und dass das Polyester-Peptid-Arzneimittelsalz darin löslich ist. Unabhängig davon, ob ein solches Lösungsmittel allein verwendet wird oder als Mischung von Lösungsmitteln, kann die Eignung solcher Lösungsmittel leicht bestimmt werden durch einfache Versuche. Homo- und Copolymere von Milch- und Glykolsäure gehören zu den polarsten und lipophobsten Polyester und lösen sich daher nicht in solchen organischen Injektionslösungsmitteln wie Ethyloleat, pflanzlichen Ölen und anderen lipophilen Trägern, aber Homo- und Copolymere auf Basis von lipophilen Monomeren oder Como-

nomeren oder lipophilen Hydroxysäuren wie Hydroxystearinsäure, sind löslich in lipophilen Injektions-trägern.

Das Verhältnis von Peptidarzneimittel zu Polyester in den Feststoffen, die gelöst werden unter Bildung der Lösungszusammensetzung der Erfindung, variieren natürlich abhängig von der Wirksamkeit des Peptidarzneimittels, der Art des verwendeten Polyesters und des gewünschten Zeitraumes der Peptidarzneimittelabgabe.

Der bevorzugte Gehalt an Peptidarzneimittel ist 0,1 bis 30% G/V. Allgemein ist die optimale Arzneimittelbeladung abhängig von dem Molekulargewicht des Polyesters und der Molekulargewichtsverteilung, dem erwünschten Freisetzungszeitraum und der Wirksamkeit des Peptidarzneimittels. So können für Arzneimittel mit relativ geringer Wirksamkeit höhere Gehalte notwendig sein.

Die Wasseraufnahme der Zusammensetzung ist ein wesentlicher Faktor bei der Kontrolle der Rate der hydrolytischen Spaltung des Polyesters und die Rate der Wasseraufnahme wird zu einem gewissen Grad bestimmt durch die Arzneimittelbeladung der Zusammensetzung. In Fällen, in denen eine relativ schnelle Arzneimittelfreisetzung erforderlich ist über einen relativ kurzen Zeitraum, zum Beispiel drei Monate, können daher bis zu 30% Peptidarzneimittelbeladung geeignet sein.

Die Monomierzusammensetzung eines Copolyesters, zum Beispiel das Verhältnis von Lactid zu Glykolid in Lactid-Co-Glykolid-Polyestern ist auch wesentlich bei der Bestimmung der Geschwindigkeit des Polyesterabbaus und der Peptidarzneimittelfreisetzung. Die Dauer der Freisetzung wird teilweise auch bestimmt durch das gewichtsmittlere Molekulargewicht des Polyesters, dabei die Menge an Peptidarzneimittel, die als Arzneimittelpolyestersalz eingearbeitet werden kann, wird bestimmt durch das zahlenmittlere Molekulargewicht. D.h., dass die Polydispersität (das Verhältnis von gewichtsmittlerem zu zahlenmittlerem Molekulargewicht) ein wesentlicher Parameter ist.

Somit sind für eine Zeitdauer der Peptidarzneimittelfreisetzung von einem bis vier Monaten Zusammensetzungen, die Polyester mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 4.000 bis 20.000 mit einer Polydispersität von 1,2 bis 2,2 umfassen, und Peptidarzneimittelgehalte von 0,1 bis 30% bevorzugt. Im allgemeinen muss das gewichtsmittlere Molekulargewicht um so geringer und die Polydispersität des Polyesters um so höher sein, je geringer die Arzneimittelbeladung ist. Für längere Freisetzungszweiräume, zum Beispiel zwei bis sechs Monate, ist es bevorzugt, Peptidarzneimittelbeladungen von 0,1 bis 20% und Polyester mit gewichtsmittleren Molekulargewichten von 8.000 bis 20.000 und Polydispersitäten von 1,5 bis > 2,2 zu verwenden. Für einen Freisetzungszeitraum von mehr als sechs Monaten sind Peptidarzneimittelbeladungen von 0,1 bis 10% bevorzugt, wobei Polyester mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 20.000 bis 50.000 und Polydispersitäten von > 1,8 erforderlich sind.

Der Einarbeitungsgrad der Peptid-Polyester-Feststoffe insgesamt in die erfindungsgemässe Zusammensetzung variiert natürlich abhängig von der Wirksamkeit der Peptidkomponente, dem Zeitraum, während dem die Abgabe des Peptidarzneimittels erwünscht ist, der Löslichkeit aller Feststoffe in dem Lösungsmittel der Wahl und dem Volumen und der Viskosität der Lösungszusammensetzung, die verabreicht werden soll.

Die Viskosität der Lösungszusammensetzung der Erfindung wird bestimmt durch das Molekulargewicht des Polyesters und die Peptidarzneimittelbeladung. Allgemein sind Lösungen, die mehr als etwa 40% Feststoffe G/V (Peptidarzneimittel/Polyestersalz, freies Arzneimittel, freier Polyester) enthalten und bei denen der Polyester ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von > 8.000 hat, schwierig durch Injektion zu verabreichen aufgrund ihrer Viskosität. Daher sind Lösungen von  $\leq 40\%$  G/V für diese Polyester bevorzugt. Für Lösungszusammensetzungen, die Polyester mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von etwa 8.000 bis etwa 20.000 enthalten, sind Konzentrationen von  $\leq 30\%$  G/V bevorzugt, und für Lösungszusammensetzungen, die Polyester mit einem Molekulargewicht von etwa 20.000 bis etwa 50.000 umfassen, sind Konzentrationen von  $\leq 20\%$  G/V bevorzugt. In einigen Fällen, zum Beispiel wenn es erwünscht ist, die Zusammensetzung unter Verwendung einer sehr dünnen Nadel zu injizieren, können Lösungen mit sehr geringer Viskosität bevorzugt sein und die Konzentration könnte auf 2% G/V oder sogar noch weniger vermindert werden, aber es gibt natürlich ein Gleichgewicht zwischen dem Vermindern der Viskosität und dem Erhöhen des erforderlichen zu injizierenden Volumens.

Gemäss einem weiteren Merkmal der Erfindung wird ein Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung der Erfindung zur Verfügung gestellt, das umfasst, dass man:

1. eine innige Mischung des basischen Peptidarzneimittels und des Polyesters in dem pharmazeutisch annehmbaren Lösungsmittel löst oder

2. langsam eine Lösung des Peptidarzneimittels in einem 1-6C-Alkanol zu einer Lösung des Polyesters in einem Lösungsmittel, das für eine Injektion geeignet ist, zugibt, und danach, das hydroxyliche Lösungsmittel, wenn es nicht pharmazeutisch annehmbar ist für die Injektion, durch Verdampfen entfernt, oder wenn das hydroxyliche Lösungsmittel pharmazeutisch annehmbar ist für die Injektion, kann seine Entfernung nicht notwendig sein.

Die innige Mischung des basischen Peptidarzneimittels und des Polyesters, die in dem Verfahren 1. oben verwendet werden, wird vorzugsweise erhalten, indem das basische Peptid und der Polyester in einem Lösungsmittel oder einer Lösungsmittelmischung gelöst werden, die sowohl das basische Peptidarzneimittel als auch den Polyester lösen kann und die gefriergetrocknet werden kann. Geeignete Bei-

spiele für solche Lösungsmittel oder Lösungsmittelmischungen sind Eisessig und Mischungen von Dioxan und Wasser, wobei anschliessend die so erhaltene Lösung gefriergetrocknet wird. Alternativ können beide Komponenten zum Beispiel in Dimethylsulfoxid gelöst werden und das Lösungsmittel anschliessend entfernt werden.

Die innige Mischung kann auch erhalten werden, indem das Peptidarzneimittel in einem hydroxyli-schen Lösungsmittel, zum Beispiel Methanol, gelöst wird und diese Lösung zu einer Lösung des Poly-esters, zum Beispiel in Dichlormethan, zugegeben wird und anschliessend die Lösungsmittel entfernt werden, zum Beispiel durch Verdampfen.

Alternativ kann eine wässrige Lösung des Peptidarzneimittels als Chloridsalz zu einer wässrigen Lö-sung oder Dispersion des Natriumsalzes des Polyesters zugegeben werden und die Mischung gefrier-getrocknet werden, was eine Mischung von Peptidarzneimittel/Polyestersalz und Natriumchlorid ergibt. Letzteres kann, falls erwünscht, entfernt werden, indem das Produkt mit einem organischen Lösungs-mittel vermischt wird und das unlösliche Natriumchlorid abfiltriert wird.

In dem Verfahren 1. kann die Lösung der innigen Mischung in dem pharmazeutisch annehmbaren Lösungsmittel durch Erhitzen und/oder Rühren der Reaktionsmischung beschleunigt werden.

Bei dem Verfahren 2. oben ist ein geeignetes Alkanollösungsmittel für das Peptid zum Beispiel Me-thanol, Ethanol oder Propylen-1,2-diol.

Ein Hauptvorteil von pharmazeutischen Peptidarzneimittelprodukten in Form von Lösungen eines Po-lyester-Peptid-Arzneimittelsalzes, das gegebenenfalls freies Arzneimittel und/oder freien Polyester ent-hält, ist es, dass die Herstellung eines injizierbaren Produktes in steriler Form für die sofortige Verwen-dung, ohne dass ein Vormischen vor der Verabreichung an einen Patienten erforderlich ist, hergestellt werden kann unter Verwendung einer Sterilfiltration. Dies ist ein viel einfacheres Herstellungsverfahren als die Sterilisation eines festen oder Suspensionsproduktes. Ein alternatives Verfahren zur Herstellung von sterilen injizierbaren Lösungen ist es, ein steriles Polyester-Peptid-Arzneimittelsalz, das gegeben- falls freies Arzneimittel und/oder freien Polyester enthält, in dem pharmazeutisch annehmbaren organi-schen Injektionsträger zu lösen.

Obwohl diese Formulierungen hauptsächlich solche für die parenterale Verabreichung sind, können Polyester-Arzneimittelsalze der Erfindung auch verwendet werden zur Herstellung von oral zu verabrei-chenden Formulierungen.

Eine ganz andere Art von Formulierung, die subdermal injiziert oder implantiert werden kann, ist ein Arzneimittelabgabesystem auf Basis von Implantaten oder Mischungen verschiedener Arten von Implan-taten. Diese können hergestellt werden aus den erfindungsgemässen Polyester-Peptid-Arzneimittelsal-zen, die gegebenenfalls freies Arzneimittel und/oder freien Polyester enthalten, unter Verwendung übli-cher Polymerschmelztechniken, zum Beispiel Extrusion und Formpressen und Spritzguss (sind aber nicht darauf beschränkt), wobei erhöhte Temperaturen (vorzugsweise weniger als 100°C) verwendet werden, um das Polyesterarzneimittelsalz bei der Herstellung des Implantates zu schmelzen. Die Her-stellung solcher Implantate kann unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden oder alternativ durch Sterilisation durch Bestrahlung am Ende unter Verwendung von  $\gamma$  oder Röntgenstrahlen, ist je-doch nicht beschränkt darauf. Diese festen Dosierungsformen können in Mikroteilchenform gebracht werden durch Verkleinern oder Vermahlen. Die bevorzugten Teilchengrössen können im Bereich von 1  $\mu\text{m}$  bis 500  $\mu\text{m}$  liegen und diese mikroteilchenförmigen Abgabesysteme (die weder Mikrokugeln noch Mikrokapseln sind) können in einem geeigneten üblichen pharmazeutisch annehmbaren Injektionsträger suspendiert werden.

Die Schmelzverarbeitung der Peptid-Polyester-Arzneimittelsalze verkörpert und erläutert einen sehr wesentlichen und wichtigen Unterschied zwischen den physikalisch-chemischen und thermodynami-schen Eigenschaften der erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Arzneimittelsalze und der freien Peptide und einfachen Salze davon. Die erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Salze schmelzen und fliessen in vielen Fällen im Gegensatz zu freien Peptiden und deren einfachen Salzen, wie Chloriden und Aceta-ten, die nicht schmelzen, sich aber bei erhöhter Temperatur zersetzen.

Der Abbau von Polyestern ist teilweise abhängig von ihrem Molekulargewicht und ihrer Polydispersi-tät. Offensichtlich muss, damit ein Abbau hauptsächlich durch hydrolytische Spaltung von Estergruppen stattfindet, der Polyester oder eine pharmazeutische Formulierung, die einen Polyester enthält, Wasser aufnehmen. Für solche Systeme, bei denen die die Freisetzung kontrollierende Matrix oder Membran insgesamt oder teilweise ein Peptid-Polyester-Arzneimittelsalz enthält, wird eine höhere Wasseraufnah-me durch die kontrollierende Matrix oder Membran erfolgen verglichen mit dem Polyester allein. Dem-zufolge werden Matrixphasen oder Membranen, die Polyesterarzneimittelsalze enthalten, anders abge-baut als solche kontinuierlichen Matrixphasen oder Membranen auf Basis von Polyester allein. Es ver-steht sich auch, dass die Diffusionsrate von Wasser oder physiologischen Flüssigkeiten in eine solche die Freisetzung kontrollierende Polyestermatrix oder Membran teilweise den Abbaugrad kontrolliert. Die-se Diffusion von Wasser oder physiologischen Flüssigkeiten wird auch durch die Dimensionen und die Form der Formulierung gesteuert und daher ist die Arzneimittelfreisetzung aus Zusammensetzungen, die polymere Salze von Polypeptiden und Polyestern enthalten, auch von diesen Faktoren abhängig.

Von speziellem Interesse als Polyesterkomponente der erfindungsgemässen Peptid-Polyester-Arznei-mittelsalze sind solche auf Basis von Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäuren, wobei die Milchsäure in irgendeiner ihrer optisch aktiven Formen und razemischen Formen sein kann. Polyester

dieser allgemeinen Art sind seit vielen Jahren bekannt und wurden im Detail untersucht in einer Vielzahl von Arzneimittelabgabesystemen mit kontrollierter Freisetzung bzw. Depotwirkung (siehe zum Beispiel «Controlled Release of Bioactive Agents from Lactide/Glycolide Polymers» von D.H. Lewis in «Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems», Herausgeber M. Chasin & R. Langer, Marcel Dekker, und die Bezugnahmen darin).

Zum Beispiel weist das US-Patent Nr. 3 773 919 in breiter Form darauf hin, dass pharmazeutische Formulierungen mit Depotwirkung von Lactidpolyestern und Lactidcopolyestern, die antimikrobielle Polypeptide enthalten, hergestellt werden könnten. Jedoch sind die darin offenbarten antimikrobiellen Peptide nicht befriedigend, um ein Polyestersalz zu erzeugen, da sie entweder als Sulfate vorliegen oder andere Merkmale haben, die die Bildung eines Polyester-Peptid-Arzneimittelsalzes hemmen oder verhindern. Tatsächlich führt, wenn die Beispiele, die in diesem Patent gezeigt werden, nachgearbeitet werden, das Vermischen des Peptidarzneimittels, unabhängig von seiner Natur, mit einem Polymer bei erhöhter Temperatur, wie dort offenbart, zu einer katastrophalen Zersetzung des Peptidarzneimittels.

In ähnlicher Weise wird in dem Europäischen Patent Nr. 25 698 ein antimikrobielles Polypeptid, Colistin, als eine von vielen aufgeführten Verbindungen offenbart, die angeblich mit Polyactid formuliert werden kann, aber wiederum hat diese Verbindung strukturelle Merkmale, die eine Salzbildung mit den endständigen Carbonsäuregruppen des Polyesters verhindern. Colistin wird pharmazeutisch nur als Colistinsulfat oder Colistinsulfomethatnatrium verwendet, wobei keine dieser Formen die Herstellung von amphipatischen Salzen mit Polyestern gemäss der vorliegenden Erfindung zulässt. Weiterer Stand der Technik, der die Verwendung von Polypeptiden mit biologisch abbaubaren Polymeren auf Basis von Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäuren offenbart, sind die Europäischen Patente Nr. 52 510, 58 481, 145 240 und 190 833, auf die schon vorher Bezug genommen wurde.

Obwohl Copolymere von Milch- und Glykolsäuren seit vielen Jahren bekannt sind, wurden die Komplexität ihrer Struktur im Hinblick auf die Verteilung der Comonomereinheiten und die daraus folgende Sequenzlänge (Anordnung derselben einzelnen Comonomereinheiten in dem Copolymer, die nicht statistisch ist) und die Wirkung solcher strukturellen Variationen, wenn sie als Arzneimittelabgabematrix verwendet werden, grossteils im Stand der Technik ignoriert. Diese Copolymerstruktur bestimmt teilweise sowohl die Löslichkeit als auch die Quellbarkeit des Polymers in Lösungsmitteln wie Benzol, ebenso wie die Abbaurate. Diese Beziehung wurde zuerst von Hutchinson (Europäisches Patent Nr. 58 481) bemerkt, wurde aber in der vorliegenden Erfindung ausgeweitet und verfeinert.

Um diesen Punkt zu erläutern, offenbart US-Patent Nr. 3 773 919 bestimmte Arzneimittelformulierungen mit Depotwirkung unter Verwendung von Copolyestern von Milch- und Glykolsäuren im Verhältnis 50/50, die in Benzol löslich sind, und tatsächlich ist dieses US-Patent spezifisch beschränkt (im Hinblick auf Milch/Glykol-Copolymere) auf solche, die benzollöslich sind. Die Nützlichkeit dieser benzollöslichen Copolyester wurde weiter verstärkt durch ihre spezifische Verwendung in dem Europäischen Patent Nr. 52 510. Jedoch offenbarte das frühere US-Patent Nr. 2 703 316 (das denselben Inhaber hat wie US-Patent Nr. 3 773 919) Lactid/Glykolid-Copolyester im Verhältnis 50/50, die in Benzol unlöslich waren. Da diese zwei US-Patente den gleichen Inhaber haben (duPont), muss angenommen werden, dass bei der Erfindung, die im letzteren dieser Patente beansprucht wird, die benzolunlöslichen Copolymere in gewisser Hinsicht schlechter waren verglichen mit den benzollöslichen. Diese Ansicht wird bestätigt durch das Europäische Patent Nr. 52 510, bei dem nur die benzollöslichen Copolymere von US-Patent Nr. 3 773 919 verwendet werden.

Der Stand der Technik mit Ausnahme des Europäischen Patents Nr. 58 481 der Anmelderin ignorierte die Wirkung der Struktur von Copolyestern von Milch- und Glykolsäuren auf die Löslichkeit und die Abbaubarkeit. Es wurde gezeigt, dass für Polyester mit ähnlichem Molekulargewicht und ähnlicher Molekulargewichtsverteilung die folgende allgemeine Beziehung in den meisten Fällen zutrifft für Polyester, die in Chloroform bei 25°C löslich sind, nämlich dass benzolunlösliche Polyester schneller abgebaut werden als Polyester, die in Benzol quellen, nicht aber gelöst werden, und solche in Benzol quellbaren Polyester schneller abgebaut werden, als solche Polyester, die in Benzol frei löslich sind, wenn Abbauprobe durchgeföhrt werden in wässrigen physiologischen Flüssigkeiten oder in Puffer mit einem pH von 7,4 bei 37°C. Demzufolge ist es besonders geeignet, Polyester zu verwenden, die in Benzol unlöslich sind, um eine kontinuierliche Freisetzung von Peptiden aus parenteralen Formulierungen über einen relativ kurzen Zeitraum, zum Beispiel eine Woche bis zwei Monate, zu liefern.

Somit trifft für Zusammensetzungen, die 0,1% G/V Peptid bis zu 75% G/V Peptid enthalten können, das folgende im Hinblick auf die Polyesterzusammensetzung und die Beziehungen von Struktur, Viskosität und Polydispersität zu.

Für die Herstellung von Peptid-Polyester-Arzneimittelsalzen, die erfindungsgemäss formuliert werden können, um eine kontinuierliche Arzneimittelfreisetzung über einen Zeitraum von einer Woche bis zwei Monaten zu ergeben, liegt die molare Zusammensetzung solcher benzolunlöslicher Polyester, die vorzugsweise eine normale bis breite Polydispersität haben, vorzugsweise im Bereich von 60% Glykolsäure (oder Glykolid)/40% Milchsäure (oder Lactid) bis etwa 25% Glykolsäure (oder Glykolid)/75% Milchsäure (oder Lactid) und solche Polyester haben vorzugsweise eine Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C im Bereich von 0,08 bis 4,0 dl/g.

Durch geeignete Auswahl der Polyesterparameter einschliesslich des Molekulargewichts und der Mo-

lekulargewichtsverteilung ist es auch möglich, eine kontinuierliche Freisetzung von Polypeptiden über einen Zeitraum von einer Woche bis zwei Monaten aus erfindungsgemässen Formulierungen zu erreichen unter Verwendung von Polymilchsäurehomopolymeren oder -Copolyestern mit einer molaren Zusammensetzung im Bereich von 35% Glykolsäure (oder Glykolid)/65% Milchsäure (oder Lactid) bis 10% Glykolsäure (oder Glykolid)/90% Milchsäure (oder Lactid), die in Benzol löslich sind mit einer Eigenviskosität mit 1% in Chloroform bei 25°C von 0,08 bis 0,5 dl/g und einer engen bis breiten Polydispersität.

Eine kontinuierliche Freisetzung von Peptiden über einen relativ langen Zeitraum, zum Beispiel zwei bis sechs Monate, aus erfindungsgemässen Formulierungen kann erreicht werden bei Verwendung von Polymilchsäurehomopolymeren oder -Copolyestern mit einer molaren Zusammensetzung im Bereich von 35% Glykolsäure (oder Glykolid)/65% Milchsäure (oder Lactid) bis 0% Glykolsäure (oder Glykolid)/100% Milchsäure (oder Lactid), die benzollöslich sind, mit einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,08 bis 0,8 dl/g und einer engen bis weiten Polydispersität.

Eine kontinuierliche Freisetzung von Peptiden über einen sehr langen Zeitraum, zum Beispiel bis zu zwei Jahren, aus erfindungsgemässen Formulierungen kann erreicht werden unter Verwendung von Polymilchsäurehomopolymeren oder -Copolyestern mit einer molaren Zusammensetzung im Bereich von 25% Glykolsäure (oder Glykolid)/75% Milchsäure (oder Lactid) bis 0% Glykolsäure (oder Glykolid)/100% Milchsäure (oder Lactid), die benzollöslich sind, mit einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,2 bis 4,0 dl/g, und einer normalen bis hohen Polydispersität.

Eine zeitlich festgelegte oder stossförmige (mit einer Induktionsperiode vor der Freisetzung) oder diskontinuierliche Freigabe (wobei sich an eine Anfangsphase der Freisetzung ein Zeitraum ohne Freisetzung oder mit nicht-wirksamer Freisetzung und eine zweite Phase der Freisetzung anschliesst) über einen relativ kurzen Zeitraum, zum Beispiel bis zu zwei Monaten, kann erreicht werden mit der erfindungsgemässen Formulierung unter Verwendung von benzolunlöslichen Polymeren, die eine enge bis höchstwahrscheinliche Molekulargewichtsverteilung und eine Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,3 bis 4,0 dl/g haben.

Ein weiteres Merkmal der vorliegenden Erfindung, das neu ist und die Erfindung von allen anderen bisher beschriebenen Arzneimittelabgabesystemen mit Depotwirkung auf Basis von Polyestern oder Copolyestern unterscheidet und das weiterhin die Freisetzungsraten kontrolliert, ist der Einbaugrad des Peptids als Polyestersalz (gegebenenfalls in Gegenwart von freiem Arzneimittel und/oder freiem Polymer). Dieses weitere Kontrollmerkmal unterscheidet sich vollständig von den Parametern, die zu erhöhten Freisetzungsraten in üblicheren Abgabesystemen auf Basis von Polyestern führen, die auf die Abgabe von sehr lipophilen Arzneimitteln mit relativ geringer wässriger Löslichkeit, zum Beispiel Steroiden, gerichtet sind. In diesen Fällen wird, wenn der Grad der Arzneimittelinanreicherung ansteigt, allgemein eine erhöhte Freisetzungsgeschwindigkeit wahrgenommen, auch wenn die Wasseraufnahme solcher Systeme vermindert ist aufgrund des erhöhten Phasenvolumens des lipophilen Arzneimittels. Tatsächlich sind solche erhöhten Freisetzungsgeschwindigkeiten von Arzneimitteln wie Steroiden davon abhängig, dass das Arzneimittel seine thermodynamische Identität behält, und von der einfachen Fick'schen Diffusionskinetik (siehe Baker und Lonsdale, siehe oben). D.h., dass für Arzneimittel wie Steroide dann, wenn die Arzneimittelbeladung zunimmt und wenn das lipophile Arzneimittel eine gewisse Löslichkeit in dem lipophilen Polymer hat, die einfachen Fick'schen Diffusionsraten ansteigen.

Eine vollständig andere Situation existiert jedoch bei den Produkten der vorliegenden Erfindung. Es wurde jetzt erkannt, dass ein Hauptanteil des Abbaus von Polyestern und Copolyestern die Hydrolyse von Estergruppen ist, und dass die Rate, mit der dies erfolgt, abhängig ist von der Wasseraufnahme (siehe Pitt und Zhong-wei Gu, J. Controlled Release, 4, 283-292 (1987); Hutchinson und Furr, ibid., 13, 279-294 (1990)). Peptide sind hydrophil und ihre Salzbildung mit Polyestern führt zu einer Phase, die ein Polyesterarzneimittelsalz enthält, das eine höhere Wasseraufnahme hat als der Polyester allein. Das bedeutet, dass die Polyesterkette in dem Salz schneller abgebaut werden kann als ein freier Polyester allein, der die gleiche Zusammensetzung, das gleiche Molekulargewicht und die gleiche Polydispersität hat. Da die Peptidfreisetzung stark abhängig ist von dem Abbau, wird die Freisetzung teilweise sowohl von dem Gehalt des Polyester-Peptid-Arzneimittelsalzes in der Zusammensetzung, als auch von dem Anteil des Peptids in dem Salz gesteuert. Für Polyester oder Copolyester der gleichen Zusammensetzung und Struktur kann in bestimmten Fällen ein Erhöhen von einem oder beiden Parametern zu erhöhten Freisetzungsraten führen und kann unter bestimmten Umständen die Zeiträume, während denen die Freisetzung erfolgt, als Folge vermindern. Peptidarzneimittelgehalte entweder als Polyesterarzneimittelsalz oder als Polyesterarzneimittelsalz in Kombination mit freiem Peptid liegen vorzugsweise im Bereich von 0,1% G/G bis 75% G/G in der Polyesterarzneimittelformulierung.

Die Peptidarzneimittelbeladung bei der erfindungsgemässen Zusammensetzung und die Variation von Polyester-molekulargewicht und Polydispersität ist wie folgt. Für kontinuierliche Freisetzung eines Peptids über sehr lange Zeiträume, zum Beispiel bis zu zwei Jahren, sind geringe Gehalte an Arzneimittel im Bereich von 1,0% bis 20% G/G bevorzugt, bei Verwendung von Polyestern, die ein bevorzugtes gewichtsmittleres Molekulargewicht von 20.000 u oder mehr und Polydispersitäten von mehr als 2,2 und vorzugsweise mehr als 3,5 haben. Diese Parameter für eine sehr langzeitige Freisetzung hängen teilweise auch von anderen Merkmalen innerhalb der Arzneimittelformulierung ab, zum Beispiel der Zusammensetzung im Hinblick auf den Comonomergehalt, die Struktur, die Löslichkeit/Unlöslichkeit in Benzol und die Geometrie und die Dimensionen der Dosierungsform. Ein Polyester mit einem gewichts-

mittleren Molekulargewicht von etwa 20.000 hat eine Eigenviskosität von etwa 0,2, abhängig von solchen Faktoren wie seiner Struktur, Zusammensetzung und Polydispersität.

Für die kontinuierliche Freisetzung über relativ lange Zeiträume, zum Beispiel bis zu 6 Monaten, liegen bevorzugte Gehalte des Peptidarzneimittels im Bereich von 0,5% bis 35% G/G, bei Verwendung von Polyestern oder Copolyestern mit gewichtsmittleren Molekulargewichten von vorzugsweise 10.000 u oder mehr und Polydispersitäten von mehr als 1,8 und vorzugsweise mehr als 2,2, abhängig von allen den anderen Parametern wie Zusammensetzung, Struktur, Löslichkeit/Unlöslichkeit in Benzol und Geometrie und Dimensionen der Dosierungsformen.

Für die kontinuierliche Freisetzung über relativ kurze Zeiträume, zum Beispiel bis zu zwei Monaten, liegen bevorzugte Peptidarzneimittelgehalte im Bereich von 0,1% bis 75% G/G, bei Verwendung von Polyestern mit einem bevorzugten gewichtsmittleren Molekulargewicht von 2.000 u oder mehr und Polydispersitäten von mehr als 1,2, abhängig von allen anderen Parametern wie Zusammensetzung, Struktur, Löslichkeit/Unlöslichkeit in Benzol und Geometrie und Dimensionen der Dosierungsformen.

Ein weiterer Parameter, der ausserdem die Freisetzung des Peptidarzneimittels aus erfindungsgemässen Formulierungen kontrolliert und der bei Abgabesystemen des Standes der Technik auf Basis von Homo- und Copolymeren von Milchsäure und Glykolsäure fehlt, ist die Funktionalität des Peptids im Hinblick auf die Anzahl basischer Gruppen, wie zum Beispiel Arginin- und Lysinresten in dem Peptidarzneimittelmolekül, und die Funktionalität des Polyesters oder Copolyesters im Hinblick auf die durchschnittliche Zahl von Carbonsäuregruppen, die in der durchschnittlichen Polymer- oder Copolymerkette enthalten sind. Für eine kontinuierliche Freisetzung des Peptidarzneimittels ist im allgemeinen die erforderliche Polydispersität um so grösser, je grösser der Grad solcher polyfunktioneller Wechselwirkungen in dem Peptid-Polyester-Polyelektrolytkomplex ist. Im Gegensatz dazu sind für diskontinuierliche oder stossförmige Freisetzung Polydispersitäten von weniger als 2,2 bevorzugt.

Das relativ seltene Auftreten einer wechselseitigen Kompatibilität oder Löslichkeit von zwei Polymerarten mit verschiedenen chemischen Strukturen wird gezeigt von Mischungen von Polyestern auf Basis von Homo- und Copolymeren von Milch- und Glykolsäuren mit Polyoxyethylenen mit niedrigem Molekulargewicht und insbesondere Polyethylenglykolen mit niedrigem Molekulargewicht. Diese Kompatibilität wurde mit guter Wirkung für Polyester-Peptid-Arzneimittelsalze und deren Herstellung in der vorliegenden Erfindung in einer neuen und unerwarteten Weise ausgenutzt. So ist es bekannt, dass bestimmte pharmakologisch aktive Peptide «pegyliert» werden können, d.h. mit einem Polyethylenglykol oder Alkoxypolyethylenglykol konjugiert werden können in solcher Weise, dass die pharmakologische Aktivität des Peptids erhalten bleibt. Die Gegenwart des pegylierten Peptidmoleküls der konjugierten Polyoxyethylenkette macht somit das pegylierte Peptid teilweise kompatibel mit dem Polyester oder Copolyester. Vorausgesetzt, dass die verbleibenden Lysin- oder Argininreste in dem pegylierten Peptid als Salze schwacher Säuren auftreten, macht somit diese Kompatibilität die Herstellung des Polyester-Peptid-Arzneimittelsalzes einfacher ebenso wie die Zugabe eines weiteren Elements zur Kontrolle der Freisetzung. Pharmakologisch aktive Konjugate von Peptiden mit anderen wasserlöslichen Polymeren, zum Beispiel Polysacchariden, synthetischen Polypeptiden und Polyvinylpyrrolidon, sind auch nützlich, aber weniger bevorzugt, da keines dieser letzteren wasserlöslichen Polymere löslich in oder kompatibel mit dem Polyester oder Copolyester ist.

Für die Erfindung werden vorzugsweise pharmakologisch aktive Peptide, die basische Funktionen enthalten, angewendet. Jedoch kann sie auch angewendet werden für Peptide, die pharmakologisch aktiv sind und entweder neutral sind oder hauptsächlich in Form von Polyanionen existieren (Polypeptide mit überschüssigen Carbonsäurefunktionen).

Im ersteren dieser Fälle (ein pharmakologisch aktives neutrales Polypeptid, das weder saure noch basische Reste enthält) wird ein Salz eines synthetischen Polypeptids, das basische Funktionen enthält und pharmakologisch inaktiv ist, mit dem Polyester verwendet. Ein solches Salz des pharmakologisch inaktiven synthetischen Polypeptids und des Polyesters oder Copolyesters ist auch amphipatisch und kann so als Dispersionsmittel zur Solubilisierung oder kolloidalen Dispersion eines pharmakologisch aktiven, aber neutralen Peptids in einer organischen Phase dienen.

Im zweiten dieser Fälle (wenn das pharmakologisch aktive Polypeptid restliche Carbonsäurefunktionen enthält) wird ein Salz eines synthetischen Polypeptids mit mindestens zwei basischen Gruppen in der synthetischen Polypeptidkette, das pharmakologisch inaktiv ist, mit einem Polyester oder Copolyester verwendet. In diesem zweiten Fall ist bei dem Salz des synthetischen Polypeptids und Polyesters die Konzentration basischer funktioneller Gruppen in dem Salz grösser als die Konzentration von Carbonsäuregruppen in dem sauren pharmakologisch aktiven Peptid. Dieser Überschuss an basischen Funktionen in dem Salz kann dann eine Wechselwirkung durch weitere Salzbildung mit den Carbonsäuregruppen des sauren pharmakologisch aktiven Peptids eingehen. Die entstehenden Salzkomplexe können dann in einem organischen Lösungsmittel oder einer organischen Phase solubilisiert oder dispergiert werden, die normalerweise ein vollständiges Nichtlösungsmittel für das in Frage stehende Peptid ist, aber ein Lösungsmittel für den Polyester oder Copolyester ist, in der oben für andere Polyester-Peptid-Salze beschriebenen Weise.

Da Salze von Peptiden, die basische Funktionen enthalten, mit Polyestern und Copolyestern, die Carbonsäurefunktionen enthalten, amphipatisch sind, können ihre oberflächenaktiven Eigenschaften verwendet werden, um die Dispersion anderer hydrophiler Arzneimittel oder wässriger Suspensionen sol-

cher Arzneimittel in einem organischen Lösungsmittel oder einer organischen Phase, die das Polyester-Peptid-Salz enthält, zu erleichtern. Die Verwendung solcher amphipatischen Salze von Peptiden mit Polymeren oder Copolyestern als Dispersions- oder Solubilisierungsmittel bildet ein weiteres Merkmal der Erfindung.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele erläutert, aber nicht beschränkt.

Die Messung der Viskositäten und die Beziehung zu den verschiedenen durchschnittlichen Molekulargewichten wird diskutiert in Sorensen und Campbell, «Preparative Methods of Polymer Chemistry», 2. Ausgabe, 1968, Interscience Division of John Wiley, Seiten 43-50. In den unten beschriebenen Beispielen wurde ein Ubbelohde-Viskosimeter mit einer Fließzeit für Chloroform allein von etwa 100 Sekunden verwendet. Chloroform wurde als Lösungsmittel verwendet, da dies ein Lösungsmittel sowohl für benzollösliche als auch benzolunlösliche Polymere in dem offenbaren Zusammensetzungsbereich war.

Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen der in dieser Anmeldung beschriebenen Polyester mit einem Molekulargewicht von mehr als etwa 2.000 u wurden bestimmt durch Grössenausschlusschromatographie bezogen auf Polystyrolstandards unter Verwendung von 3 x 30 cm PL-Gel, 10 µm gemischte B-Säulen (von Polymer Laboratories, Church Stretton, Shropshire, GB), die in Reihe verbunden und mit einer 10 µm Fangsäule ausgestattet waren. Tetrahydrofuran wurde als Lösungsmittel bei 40°C mit einer Nennfließrate von 1 ml pro Minute verwendet. Die Molekulargewichteigenschaften wurden berechnet unter Verwendung eines Professional Computers Perkin-Elmer 7700 mit Data Analysis Package mit GPC Software.

Für die Messung von Molekulargewichten von weniger als 2.000 Da ist die Grössenausschlusschromatographie nicht das bevorzugte Verfahren der Molekulargewichtsbestimmung und stattdessen kann eine nicht-wässrige potentiometrische Titration verwendet werden, die entweder das Molekulargewicht oder Äquivalentgewicht des Polyesters ergibt durch direkte Messung des Carbonsäuregehaltes des Polyesters oder Copolyesters. Nicht-wässrige potentiometrische Titrations wurden allgemein ausgeführt unter Verwendung eines Polyesters oder Copolyesters mit bekanntem Gewicht, gelöst in Aceton, das 10% V/V Wasser enthielt. Die Titrations wurden durchgeführt unter Verwendung von verdünnten Natriumhydroxidlösungen und unter Verwendung einer von Radiometer (Kopenhagen, Dänemark) gelieferten Ausstattung. Diese bestand aus einem Titrator (TTT 80) und einer Autobürette (ABU 80), einem pH-Messer (PHM 83) und einer Russell-CMAWK-Elektrode. Die Titration wurde aufgezeichnet an einem Servograph (REC 80) und das Molekulargewicht des Polymers war

$$\frac{w \times 1000 \times f}{v \times n}$$

worin

w das Gewicht des verwendeten Polymers ist,

f die Durchschnittszahl von Carbonsäuregruppen pro Polymerkette ist,

v das Volumen von verwendetem Natriumhydroxid ist und

n die Normalität des verwendeten Natriumhydroxids ist.

#### Beispiel 1

Goserelinacetat (100,6 mg, äquivalent zu etwa 86 mg Peptid als freie Base) und ein D,L-Lactid/Glykolid-Copolymer mit einem molaren Verhältnis von 50/50% (300,3 mg), das eine endständige Carbonsäuregruppe pro Polymerkette enthielt und ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von 4.300 Da und eine Eigenviskosität von 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,08 dl/g hatte und das unlöslich in Benzol war, wurde in anhydridfreiem Eisessig (3 ml) gelöst. Die Essigsäurelösung von Arzneimittel und Polymer wurde tropfenweise zu flüssigen Stickstoff zugegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden 24 Stunden lang unter Hochvakuumbedingungen gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Produkt wurde schliesslich bei 50°C 24 Stunden lang im Hochvakuum nachgetrocknet, was eine Polyester-Arzneimittelmischung ergab, die nominell etwa 25% G/G Goserelinacetat (äquivalent zu etwa 22,3% G/G Peptid als freie Base) enthielt.

Die getrocknete Polyester-Arzneimittelmischung (400 mg) wurde zu Dichlormethan zugegeben und auf 4 ml gebracht. Anfangs wurde eine trübe kolloidale Mischung erhalten, aber im Verlauf einer Stunde klärte sich diese nach und nach unter Bildung einer klaren Lösung. Diese Lösung wurde als Film gegossen und bei Raumtemperatur etwa 6 Stunden und dann 20 Stunden bei 50°C im Hochvakuum trocknen gelassen. Ein klarer transparenter Film, der das Polyesterarzneimittelsalz enthielt, wurde auf diese Weise erhalten.

(i) Der so erhaltene, klare transparente Film (100 mg), wurde geschmolzen und pressgeformt bei 80°C, was einen transparenten Film ergab, der etwa 0,02 cm dick war. Beim Eintauchen in Wasser mit 37°C 24 Stunden lang erhöhte sich das Gewicht des hydratisierten Arzneimittel/Polymerfilms auf 225 mg. Im Gegensatz dazu erhöhte sich das Gewicht eines Polyesters allein (100 mg), der auf gleiche Weise behandelt wurde, nur auf 126 mg, und ein Film, der eine einfache Mischung von Goserelinacetat (25 mg) und Polymer (75 mg) enthielt (hergestellt, indem Arzneimittel zu einer Lösung von Polymer in Dichlormethan zugegeben wurde, das Lösungsmittel entfernt wurde und das entstehende Material

pressgeformt wurde, was einen Film mit etwa 0,02 cm Dicke ergab), wog nur 136 mg nach 24 Stunden Eintauchen in Wasser mit 37°C. Dieser Versuch zeigt offensichtlich, dass die Polyesterarzneimittelsalzzusammensetzung beträchtlich hydrophiler ist und eine höhere Wasseraufnahme hat als der Polyester alleine oder einfache Mischungen von Arzneimittel und Polyester.

5 Bei der einfachen Mischung von Arzneimittel und Polymer in Dichlormethan gab es selbst nach einem Monat keinen Hinweis darauf, dass sich das Arzneimittel löste, und die einfache Mischung ergab, wenn sie getrocknet und pressgeformt war, einen lichtundurchlässigen Film. Jedoch wurde in einem weiteren Versuch der oben erhaltene klare transparente Film (100 mg) in Dichlormethan (1 ml) gelöst, was eine klare transparente Polyester-Arzneimittellösung gab. Zu dieser Lösung wurde Trifluoressigsäure (50 µl) zugegeben und die Mischung heftig gerührt. Es gab ein sofortiges Ausfallen von Goserelin als Trifluoracetatsalz.

10 Diese zwei Versuche zeigen, dass der wie oben beschrieben erhaltene klare transparente Film, der das Polyesterarzneimittelsalz enthält, zu einem geformten Abgabesystem verarbeitet werden kann unter Verwendung üblicher Polymerschmelzherstellungstechniken. Weiterhin enthält dieses Produkt praktisch keine Essigsäure oder kein Acetatanion und daher muss das Arzneimittel in Form des Polyestersalzes vorliegen. Das Polyesterarzneimittelsalz ergibt sich, da die endständigen Milch- oder Glykolsäuregruppen des Copolymers viel stärkere Säuren als Essigsäure sind und so die schwächere Essigsäure durch das Polymer verdrängt wird. Die Polymercarbonsäure in dem dichlormethanolöslichen Polyesterarzneimittelsalz kann wiederum durch eine viel stärkere Carbonsäure, zum Beispiel Trifluoressigsäure, verdrängt werden. Wenn dies geschieht, wird das Trifluoracetatsalz des Peptids gebildet und dieses fällt, da es in Dichlormethan nicht löslich ist, aus.

15 (ii) Der wie oben beschrieben erhaltene klare transparente Film (50 mg), der das Polyesterarzneimittelsalz enthält, wurde geformt, um einen Film mit einer Dicke von etwa 0,02 cm zu ergeben. Der Film wurde in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (die 0,02% Natriumazid enthielt) bei pH 7,4 und 37°C inkubiert und die Pufferlösung wurde periodisch mit UV untersucht, um die Menge an freigesetztem Goserelin zu bestimmen. Dieses geformte Produkt gab Goserelin kontinuierlich 2 Wochen lang ab und war nach 3 Wochen praktisch vollständig abgebaut und verschwand aus dem Inkubationsmedium.

20 Dieser Versuch zeigt die Nützlichkeit von benzolunlöslichen Polymeren mit sehr geringem Molekulargewicht zur Abgabe eines Arzneimittels über ein kurzes Zeitintervall.

30 Ähnliche geformte Formulierungen können hergestellt werden unter Verwendung entweder von natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormonen oder anderen stark wirksamen synthetischen Analogen (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin und Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren, anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeinem anderen Polypeptidhormon, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert.

### Beispiel 2

40 Das in Beispiel 1 oben erhaltene klare transparente Filmprodukt (100 mg) und ein D,L-Lactid/Glykolid-Copolymer mit einem molaren Verhältnis von 50/50 (1,05 g) mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 121.000 Da und einer Eigenviskosität mit 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,84 dl/g, das in Benzol unlöslich ist, wurden in Dichlormethan (100 ml) gelöst. Die Lösung wurde heftig mit 1.000 Umdrehungen pro Minute (Upm) gerührt und Silikonöl (50 ml) wurde langsam innerhalb 1 Stunde zugegeben, um sowohl das Polyesterarzneimittelsalz als auch den freien Polyester auszufällen. Nach 1 Stunde wurde die teilweise ausgefallte Mischung von Polyesterarzneimittelsalz, freiem Polyester, Silikonöl und Dichlormethan zu heftig gerührtem Hexan (2 l) zugegeben, um die Mikroteilchen aus Polyesterarzneimittelsalz und freiem Polyester zu härten. Diese Mischung wurde 2 Stunden gerührt und dann absetzen gelassen und die Hexanphase wurde verworfen. Die Mikroteilchen (die etwa 1,95% G/G Goserelin als freie Base enthielten) wurden dreimal mit frischem Hexan (500 ml) gewaschen und schliesslich durch Filtration isoliert und bei 35°C 24 Stunden lang im Hochvakuum getrocknet. Die durchschnittliche Grösse der so erhaltenen annähernd kugelförmigen Mikroteilchen, die eine Lösung von Polyesterarzneimittelsalz in freiem Polymer umfassen, war etwa 30 µm.

50 Ein Teil dieses Produktes (250 mg) wurde in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (die 0,02% Natriumazid enthielt) bei pH 7,4 und 37°C inkubiert und die Pufferlösung wurde periodisch mit UV getestet, um die Menge an freigesetztem Goserelin zu bestimmen. Die Mikroteilchen setzten das Arzneimittel innerhalb von etwa 5 Wochen frei und nach 7 Wochen war es praktisch aus dem Inkubationsmedium verschwunden.

60 Die in diesem Versuch verwendete Polymerzusammensetzung war eine Mischung von zwei Copolymeren der gleichen Lactid/Glykolid-Zusammensetzung mit stark verschiedenen Molekulargewichten und war als Mischung, wie hier beschrieben, unlöslich in Benzol, hatte ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von 108.000 Da, eine Polydispersität von 5,1 und eine Eigenviskosität mit 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,72 dl/g.

65 Diese Versuche zeigen den Nutzen von benzolunlöslichen Polyestern mit hohem Molekulargewicht und hoher Polydispersität für die Freisetzung von Goserelin über relativ kurze Zeiträume von 5 bis 7 Wochen.

Ähnliche Mikroteilchenformulierungen können hergestellt werden unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Analogen von Gonadotrophin freisetzenden Hormonen oder anderen sehr wirksamen synthetischen Analogen (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert oder moduliert.

### Beispiel 3

Goserelinacetat (101 mg, äquivalent zu etwa 86 mg Goserelin als freie Base) und eine 100 mol-%-ige Poly-(D,L-Milchsäure) (299,7 mg), die in Benzol löslich war, mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von etwa 5.400 u, einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,08 dl/g und einer Polydispersität von 1,8 wurden in anhydridfreiem Eisessig (4 ml) gelöst. Diese Essigsäurelösung von Goserelin und Polyester wurde tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden isoliert, in Vakuum 24 Stunden lang gefriergetrocknet und dann 24 Stunden bei 55°C im Hochvakuum getrocknet.

(i) Das entstehende getrocknete Produkt wurde zu Dichlormethan (4 ml) zugegeben, was anfänglich eine trübe Mischung ergab, die sich schnell auflöste, was eine klare Mischung ergab, die durch ein 0,2 µm Nylonsterilfilter filtriert wurde.

Dieser Versuch zeigt, dass Lösungen des Polyestersalzes von Goserelin steril filtriert werden können im Gegensatz zu Mischungen oder Dispersionen von einfachen Arzneimittelsalzen in einer organischen Lösung des Polyesters.

(ii) Trifluoressigsäure (50 µl) wurde zu der klaren Dichlormethanolösung von (i) oben (1 ml) unter heftigem Rühren zugegeben. Es erfolgte eine sofortige Ausfällung von Goserelin als Trifluoracetatsalz, was zeigt, dass das Goserelin in der Dichlormethanolösung als Salz mit den endständigen Carboxygruppen des Polyesters vorhanden war.

Ähnliche sterile Lösungsformulierungen können hergestellt werden unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormons oder anderer sehr wirksamer synthetischer Analoge (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert oder moduliert.

### Beispiel 4

Die in Beispiel 3 erhaltene Dichlormethanolösung von Goserelin-Polyester (2 ml) wurde mit weiterem Dichlormethan verdünnt und auf 10 ml gebracht. Diese Lösung wurde in heftig gerührtes Hexan (1 l) gesprüht, was nach Isolierung und Trocknen im Vakuum 24 Stunden lang bei 45°C Mikroteilchen lieferte, deren Grösse im Bereich von etwa 2 µm bis etwa 30 µm war, mit einer durchschnittlichen Grösse von etwa 10 µm. Der Goserelingehalt dieser Mikroteilchen war äquivalent etwa 22% freier Base.

Diese Mikroteilchen wurden in Kochsalzlösung, die mit Phosphat auf pH 7,4 bei 37°C gepuffert war, inkubiert und der Überstand wurde periodisch mit UV auf Goserelin untersucht. Goserelin wurde kontinuierlich freigesetzt, die Freisetzung war im wesentlichen nach etwa 8 Wochen abgeschlossen und nach 11 Wochen hatten sich die Mikroteilchen völlig zersetzt und waren aus dem Inkubationsmedium verschwunden. Dieser Versuch zeigt die Nützlichkeit von benzollöslichen Polyestern mit sehr geringem Molekulargewicht für eine kontinuierliche Peptidfreisetzung von etwa 2 Monaten.

Wenn das Goserelinacetat in den obigen Versuchen durch das Trifluoracetatsalz ersetzt wird, wird keine klare Lösung erhalten, aber stattdessen enthält die Polyesterlösung in Dichlormethan im wesentlichen eine Dispersion von Goserelintrifluoracetat. Diese Mischung geht nicht durch ein 0,2 µm Filter und kann daher nicht steril filtriert werden; eine solche Dispersion von Goserelintrifluoracetat in der Polyesterlösung erzeugt, wenn sie in gerührtes Hexan gesprüht wird, eine gefrorene und ausgeflockte Masse statt Mikroteilchen.

Damit hat das Goserelinpolyestersalz Eigenschaften, die es viel leichter machen, es in Mikroteilchenform zu formulieren, verglichen mit Mischungen aus dem einfachen Salz in einer Lösung eines Polymers mit sehr geringem Molekulargewicht.

Ähnliche mikroteilchenförmige Formulierungen können hergestellt werden unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormons oder anderer sehr wirksamer synthetischer Analoge (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert oder moduliert.

Beispiel 5

Goserelinacetat (304 mg, äquivalent zu etwa 248 mg Goserelin als freie Base) und 100 mol-%-ige Poly(D,L-Milchsäure) (102 mg) mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von etwa 5.400, einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,08 dl/g und einer Polydispersität von 1,8, wurden in anhydridfreiem Eisessig (2 ml) gelöst. Die Essigsäurelösung von Goserelin und Polyester wurde dann tropfenweise in flüssigen Stickstoff gegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden isoliert, im Hochvakuum 24 Stunden lang gefriergetrocknet und dann im Vakuum 24 Stunden lang bei 55°C getrocknet.

Das entstehende Produkt wurde zu Dichlormethan (2 ml) zugegeben, was eine trübe kolloidale Mischung ergab, die sich mit der Zeit nicht vollständig klärte. Diese Mischung in Dichlormethan umfasst im wesentlichen eine Dispersion von Goserelinacetat in dem Goserelinpolyestersalz.

Diese Dispersion von Goserelinacetat in der Methylenchloridlösung des Polyestergoserelinsalzes wurde in Mikroteilchenform gebracht, mit einem Gehalt von Goserelin äquivalent zu etwa 72% G/G als freie Base, wobei das freie Goserelinacetat in der kontinuierlichen Phase des Goserelinpolyestersalzes dispergiert war, durch Sprühtrocknen, Sprühfrieren, einfaches Ausfällen oder Phasentrennungskoacervierung.

Ähnliche teilchenförmige Formulierungen können hergestellt werden unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormons oder anderer sehr wirksamer synthetischer Analoge (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert oder moduliert.

Beispiel 6

Ein Copolyester von D,L-Milchsäure und Glykolsäure mit einer molaren Zusammensetzung von 78% D,L-Milchsäure und 22% Glykolsäure wurde hergestellt durch Copolykondensation der zwei Hydroxysäuren. Nach Reinigung des Copolymers durch Zugabe einer Lösung des Copolyesters in Aceton zu Methanol, um den Copolyester auszufällen, und Abtrennung und Trocknen des ausgefallenen Materials hatte der Copolyester ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von etwa 11.000 u, ein zahlenmittleres Molekulargewicht (bestimmt durch nicht-wässrige potentiometrische Titration unter der Annahme, dass jede Copolyesterkette nur eine endständige Carbonsäuregruppe aufweist) von 6.100 u und daher eine Polydispersität von 1,6 und eine Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,15 dl/g.

Goserelinacetat (228,9 mg, äquivalent zu etwa 200 mg Goserelin als freie Base) und der oben beschriebene Copolyester (1,8 g) wurden in anhydridfreiem Eisessig (10 ml) gelöst. Die so erhaltene Goserelinpolyesterlösung wurde tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden isoliert, 24 Stunden lang gefriergetrocknet und dann 24 Stunden lang im Vakuum bei 50°C endgültig getrocknet.

Die getrocknete Goserelinpolyestermischung wurde zu Dichlormethan (10 ml) zugegeben, was eine anfangs trübe kolloidale Mischung ergab, aber nach 24 Stunden hatte diese sich in eine klare Lösung verändert, die durch ein 0,2 µm Nylonsterilfilter filtriert werden konnte.

Als Trifluoressigsäure zu einem geringen Anteil dieser klaren Lösung zugegeben wurde, gab es ein sofortiges Ausfallen des Goserelins als Trifluoracetatsalz, was zeigt, dass in der klaren transparenten Dichlormethanlösung das Goserelin hauptsächlich oder vollständig als Polyestersalz in der Goserelinpolyestermischung vorhanden war.

Die Dichlormethanlösung des Goserelinpolyestersalzes wurde zur Trockne eingeengt und der entstehende Feststoff wurde 6 Stunden lang bei Raumtemperatur und dann 20 Stunden im Vakuum bei 55°C getrocknet, was einen klaren gegossenen Film ergab, der Goserelinpolyestersalz enthielt.

Die getrocknete Goserelinpolyestermischung, die wie oben beschrieben hergestellt wurde (1 g), wurde in 8 ml Dichlormethan gelöst. Die entstehende Lösung wurde in einen 250-ml-Mehrhalsrundkolben gebracht und mit einem Stickstoffstrom gespült, um sämtliche Luft zu entfernen und eine kohlendioxidfreie Atmosphäre zu erzeugen. Wasser (90 ml), das vorher entgast worden war, um jegliches Kohlendioxid zu entfernen und dann unter kohlendioxidfreiem Stickstoff aufbewahrt worden war, wurde in den Kolben eingeleitet und die Mischung wurde heftig mit etwa 500 Upm unter einer Atmosphäre, die im wesentlichen kohlendioxidfrei war, gerührt. Die Dichlormethanlösung von Goserelinpolyestersalz wurde schnell dispergiert, was eine stabile Öl(Dichlormethanlösung des Arzneimittelpolymersalzes)-in-Wasser-Dispersion ergab. Unter Aufrechterhaltung des Rührens mit etwa 200 Upm wurde nach und nach ein Vakuum angelegt und die Masse des Dichlormethans wurde im Vakuum verdampft, was eine Dispersion von Goserelinpolyestersalz in Wasser ergab. Das Gefriertrocknen dieser Dispersion erzeugte Mikroteilchen, in denen das Goserelin in Form des Goserelinpolyestersalzes vorhanden ist mit einer durchschnittlichen Teilchengröße von etwa 20 µm, von denen gezeigt wurde, dass sie Goserelin im Verlauf von etwa 6 Wochen freisetzen, wenn sie in Kochsalzlösung, die mit Phosphat auf pH 7,4 gepuffert war, bei 37°C inkubiert wurden, wobei der Überstand periodisch mit UV auf Goserelin untersucht wurde.

Ähnliche Mikroteilchen können auch hergestellt werden, indem in die wässrige Phase Mittel eingebracht werden, von denen bekannt ist, dass sie die Polypeptidstabilität verbessern, wie zum Beispiel Mannit. Obwohl es bevorzugt ist, das obige Verfahren in einer kohlendioxidfreien Atmosphäre durchzuführen, ist es nichtsdestotrotz möglich, befriedigende Ergebnisse in Gegenwart von Spuren von Kohlendioxid zu erreichen, abhängig von dem Molekulargewicht des Polyesters und der Arzneimittelbeladung.

Ähnliche sterile Lösungen, gegossene Filme und mikroteilchenförmige Formulierungen können hergestellt werden in ähnlicher Weise unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Analoges von Gonadotrophin freisetzenden Hormonen oder anderen sehr wirksamen synthetischen Analoges (Agonisten oder Antagonisten), wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert oder moduliert.

#### 15 Beispiel 7

Das in Beispiel 5 beschriebene Verfahren wurde wiederholt, was einen klaren transparenten Film ergab, und dieser Film (1 g) wurde in Dichlormethan (4 ml) gelöst. Die Lösung wurde auf etwa 35°C erwärmt und dann wurde eine wässrige Lösung mit etwa 40°C aus gereinigter Gelatine (15 mg) in Wasser (100 µl) zu der Dichlormethanolösung von Goserelinpolyestersalz zugegeben und die Mischung wurde heftig bei etwa 35°C gerührt, was eine extrem feine Dispersion der wässrigen Gelatinelösung in der Dichlormethanolösung des Goserelinpolyestersalzes ergab. Beim Kühlen auf Raumtemperatur wurde die kolloidale Natur der Suspension erhalten.

Dieser Versuch zeigt, dass das Goserelinpolyestersalz oberflächenaktive Eigenschaften hat und verwendet werden kann, um stabile Dispersionen in einer Ölphase, zum Beispiel Dichlormethan, von wässrigen Lösungen von anderen wasserlöslichen Mitteln, wie Gelatine, Polysacchariden und anderen hydrophilen Polymeren, oder umgekehrt, zu ergeben.

Das in Beispiel 6 beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung der Dispersion der wässrigen Gelatine in der Dichlormethanolösung des oben beschriebenen Goserelinpolyestersalzes, was ein Mikrokapselprodukt ergibt, das sowohl Gelatine als auch Goserelinpolyestersalz enthält.

Andere Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht können in die wässrige Polymerphase eingearbeitet werden. Insbesondere ist es manchmal nützlich, Verbindungen wie Mannit zuzugeben, von denen bekannt ist, dass sie die Stabilität von Peptiden verbessern. Alternativ können diese stabilisierenden Mittel in beide wässrigen Phasen der komplexen Wasser-in-Öl-in-Wasser-Dispersion eingearbeitet werden, die wässrige Gelatine dispergiert in der Dichlormethanolösung des Goserelinpolyestersalzes umfasst, und die entstehende Wasser-in-Öl-Dispersion wird wiederum in Wasser dispergiert.

Ähnliche Suspensions- und Mikroteilchenformulierungen können in ähnlicher Weise hergestellt werden unter Verwendung irgendeines sehr wirksamen Analoges (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzenden Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrollieren oder modulieren kann.

#### 45 Beispiel 8

Goserelinacetat (771 mg, äquivalent zu etwa 670 mg Goserelin als freie Base), ein D,L-Lactid/Glykolid-Copolymer mit einem molaren Verhältnis von 95/5 (1,8 g) mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von etwa 3.600 u und einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,08 dl/g und ein D,L-Lactid/Glykolid-Copolymer mit einem molaren Verhältnis von 95/5 mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von etwa 15.000 u und einer Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform bei 25°C von 0,17 dl/g (4,2 g) wurden in anhydridfreiem Eisessig (70 ml) gelöst. Die vereinigten Polymere hatten ein gewichtsmittleres Molekulargewicht von etwa 12.300 Da und eine Polydispersität von etwa 2,6. Die Goserelinpolyesterlösung wurde tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden isoliert und im Hochvakuum etwa 18 Stunden lang gefriergetrocknet. Die Produktarzneimittelpolymermischung wurde schliesslich bei 55°C 24 Stunden lang im Hochvakuum getrocknet.

Die getrocknete Arzneimittelpolymermischung (6 g) wurde zu Dichlormethan (60 ml) zugegeben, was eine anfangs trübe kolloidale Mischung ergab, die im Verlauf 1 Stunde langsam sich aufklärte, was eine klare Lösung des Goserelinpolyestersalzes in Dichlormethan ergab.

Diese Lösung wurde unter Verwendung eines Buchi-Sprühtrockners sprühgetrocknet unter Verwendung einer Einlasstemperatur von 60°C und einer Auslasstemperatur von 35°C, um annähernd kugelförmige Mikroteilchen von etwa 1 µm bis etwa 10 µm Durchmesser zu erzeugen.

Bei diesen Mikroteilchen ist das Arzneimittel im wesentlichen vollständig als Goserelinpolyestersalz vorhanden, da der Essigsäuregehalt, als freie Säure oder Anion, 0,06% oder weniger ist, anstelle von 0,6 bis 0,7%, die erforderlich wären, wenn das Goserelin als Acetatsalz vorhanden wäre.

Diese Mikroteilchen ergeben, wenn sie weiter durch Pressformen bei 80°C verarbeitet werden, einen klaren, transparenten, spröden Film.

Dieser Versuch zeigt die Nützlichkeit von Peptidsalzen mit benzollöslichen Polyestern von Polymeren mit niedrigem Molekulargewicht und gegebenenfalls hoher Polydispersität.

5 Ähnliche Lösungs-, Mikroteilchen- und geformte Formulierungen können hergestellt werden unter Verwendung irgendeines natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormons oder anderer sehr wirksamer synthetischer Analoge (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie Tryptorelin, Leuprorelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder Salze mit anderen schwachen Säuren anstelle von Goserelinacetat; oder irgendeines anderen Polypeptidhormons, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der einzelnen Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert.

#### Beispiel 9

15 Goserelinacetat und andere sehr wirksame synthetische Agonisten von Gonadotrophin freisetzendem Hormon sind selektiv chemisch kastrierende Mittel, die verwendet werden zur Behandlung von hormonabhängigen Krebsarten wie Prostatakrebs bei Männern und Brustkrebs in der Prämenopause bei Frauen. Diese Arzneimittel werden auch verwendet, um nicht-maligne gynäkologische Zustände bei Frauen zu behandeln, und sie wirken, indem sie die Sekretionen von Gonadotrophinen durch die Hypophyse schliesslich unterdrücken, was wiederum zu einer Unterdrückung von Sexualhormonen wie Östrogen bei Frauen und Testosteron bei Männern führt.

20 Demzufolge kann eine kontinuierliche andauernde Freisetzung solcher Arzneimittel in vivo bei normalen erwachsenen weiblichen Ratten mit regulären Östruszyklen ausgewertet werden. Bei diesen Tieren ist der Östruszyklus etwa 4 Tage und das Auftreten des Östrus wird gezeigt durch die Gegenwart von verhornten Zellen im Vaginalabstrich, der am Tag des Östrus entnommen wird. Wenn das Tier chemisch kastriert ist mit einem Arzneimittel wie Goserelin, dann tritt kein Östrus auf, was dazu führt, dass im Vaginalabstrich keine verhornten Zellen vorhanden sind. Die Tiere treten in einen längeren Zeitraum des Diöstrus ein, der durch die chemische Kastration erzeugt wird, und der Diöstrus bleibt so lange erhalten, wie wirksame Mengen des Arzneimittels freigesetzt werden.

25 (i) Die in Beispiel 8 erhaltenen Mikroteilchen (450 mg) wurden in Wasser, das 2% G/V Natriumcarboxymethylcellulose und 0,2% G/V Polysorbat 80 enthielt, dispergiert und auf 3 ml gebracht mit Wasser. 0,2 ml (äquivalent zu etwa 3 mg Goserelin als freie Base) wurden subkutan 10 normalen erwachsenen weiblichen Ratten injiziert, die einen regulären Zyklus zeigten, und die einsetzende Wirkung auf den Östruszyklus wurde bestimmt durch mikroskopische Untersuchung des Vaginalabstrichs. Die Tiere traten in eine kontinuierliche Phase des Diöstrus, d.h. chemische Kastration, ein, die  $95 \pm 3$  Tage dauerte.

30 Dieser Versuch zeigt, dass wässrige Suspensionsformulierungen von Goserelinpolyestersalz auf Basis eines benzollöslichen Polyesters mit niedrigem Molekulargewicht einen relativ langen Zeitraum der kontrollierten Freisetzung von etwa 3 Monaten eines Peptidarzneimittels, das eine metabolische Halbwertszeit von nur 4 bis 6 Stunden hat, liefern.

35 (ii) Die in Beispiel 8 erhaltenen Mikroteilchen (450 mg) wurden in Ethyloleat dispergiert und auf 3 ml gebracht. Wiederum wurden 0,2 ml der Formulierung durch subkutane Injektion an (sechs) weibliche Ratten verabreicht, die einen regulären Zyklus zeigten. Die Tiere traten in eine kontinuierliche Phase des Diöstrus ein, die  $81 \pm 3$  Tage dauerte.

40 Dieser Versuch zeigt, dass eine Lösungsformulierung von Goserelinpolyestersalz in einem organischen Injektionsträger, der ein Nichtlösungsmittel für den Polyester alleine ist, einen relativ langen Zeitraum der kontrollierten Peptidarzneimittelfreisetzung bewirkt.

#### Beispiel 10

50 Leuprorelinacetat (50,3 mg) und der oben in Beispiel 6 beschriebene Copolyester, der 78 Mol-% D,L-Milchsäure und 22 Mol-% Glykolsäure umfasst (453,2 mg), wurden in anhydridfreiem Eisessig (5 ml) gelöst. Die entstehende Lösung wurde tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben und die gefrorenen Tröpfchen wurden im Hochvakuum 22 Stunden lang gefriergetrocknet und dann 24 Stunden im Hochvakuum bei 55°C weiter getrocknet.

55 Das entstehende Produkt (500 mg) wurde in redestilliertem Aceton (10 ml) in einem 100-ml-Rundkolben gelöst, was anfangs eine trübe kolloidale Mischung ergab, die sich nach und nach zu einer transparenten Lösung klärte. Das Aceton wurde im Vakuum verdampft und der entstehende klare Film wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 55°C getrocknet. Dieser Film aus Leuprorelinpolyestersalz wurde wieder in Aceton (10 ml) gelöst und die Lösung wurde entgast und dann mit Stickstoff gespült.

60 Frisch destilliertes Wasser (200 ml) wurde heftig unter Stickstoff gerührt und die Acetonlösung von Leuprorelinpolyestersalz wurde auf die Oberfläche des gerührten Wassers gesprüht. Als die gesamte Acetonlösung versprüht war, wurde das Rühren eine weitere Stunde fortgesetzt und dann wurde die Mischung absetzen gelassen. Die Mikroteilchen des Leuprorelinpolyestersalzes setzten sich ab und der wässrige Überstand wurde verworfen. Die Mikroteilchen wurden wieder in einem weiteren Anteil kohlen-

dioxidfreiem Wasser (~200 ml) suspendiert und die Suspension wurde eine weitere Stunde unter Stickstoff gerührt. Die Mikroteilchen wurden abgetrennt, indem die Mischung anfangs sich absetzen gelassen wurde, die wässrige Phase dekantiert wurde und dann der Rückstand filtriert wurde, um die Mikroteilchen von überschüssigem Wasser abzutrennen. Die Mikroteilchen wurden 24 Stunden im Hochvakuum bei 30°C getrocknet, was ein Produkt ergab, das eine durchschnittliche Teilchengröße von etwa 15 µm hatte.

Diese Mikroteilchenformulierung des Leuprorelinpolyestersalzes wurde in Kochsalzlösung, die mit Phosphat auf pH 7,4 gepuffert war, bei 37°C inkubiert und der Überstand wurde periodisch mit UV auf Leuprorelin getestet. Leuprorelin wurde kontinuierlich etwa 5 Wochen lang freigesetzt, wonach sich die Formulierung vollständig zersetzt hatte.

Ähnliche Mikroteilchenformulierungen können in ähnlicher Weise hergestellt werden unter Verwendung entweder von natürlich vorkommenden Gonadotrophin freisetzenden Hormonen oder anderen hochwirksamen synthetischen Analogen (Agonisten oder Antagonisten) von Gonadotrophin freisetzendem Hormon, wie zum Beispiel Tryptorelin, Goserelin, Buserelin oder Nafarelin, vorzugsweise als Acetatsalze oder andere Salze mit schwachen Säuren, anstelle von Leuprorelin; oder irgendeinem anderen Polypeptidhormon, das die Sekretion des intakten Gonadotrophins oder einer der Gonadotrophinuntereinheiten kontrolliert.

#### Beispiel 11

i) Goserelinacetat (2,28 g, äquivalent zu etwa 2,00 g Goserelin als freie Base) wurde in anhydridfreiem Eisessig (60 ml) gelöst. Eine Mischung von zwei Poly-(D,L-Milchsäure/Polyglykolsäure)-Copolymeren in einem molaren Verhältnis von 95/5% (12,6 g eines Copolymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 15.846 und einer Polydispersität von 1,38 und 5,4 g eines Copolymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 3.896 und einer Polydispersität von 1,78), die einen Überschuss von endständigen Carbonsäuregruppen des Copolymers bezogen auf das basische Arzneimittel lieferten, wurde unter Rühren in anhydridfreiem Eisessig (150 ml) gelöst, was eine klare Lösung ergab. Die Arzneimittellösung wurde zu der Copolymerlösung zugegeben und sorgfältig vermischt. Diese Mischung wurde dann tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben, um sie in Form kleiner Kügelchen zu frieren, und das feste Material wurde 2 Tage lang gefriergetrocknet unter Verwendung eines Edwards-Hochvakuumgefrieretrockners. Das getrocknete Material wurde weiter 24 Stunden lang in einem Vakuumofen bei 50 bis 55°C getrocknet.

Dieses getrocknete Produkt (100 mg) wurde zu Dichlormethan (1 ml) zugegeben und es erwies sich, dass es sich vollständig innerhalb von 2 Stunden auflöste unter Bildung einer klaren Lösung. Dieses Beispiel zeigt, dass die Bildung des Polyestergeroserelinsalzes dem Arzneimittel eine gute Löslichkeit vermittelt, so dass es in einem nicht-polaren Lösungsmittel gelöst werden kann.

ii) Goserelinacetat (2,28 g, äquivalent zu etwa 2,00 g Goserelin als freie Base) wurde in anhydridfreiem Eisessig (60 ml) gelöst. Eine Mischung von zwei 100 Mol-%-igen Poly-(D,L-Milchsäure)-Polymeren (12,6 g eines Polymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 15.178 und einer Polydispersität von 1,27 und 5,4 g eines Polymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 4.204 und einer Polydispersität von 1,84), die einen Überschuss an endständigen Carbonsäuregruppen des Polymers bezogen auf das basische Arzneimittel lieferten, wurde unter Rühren in anhydridfreiem Eisessig (150 ml) gelöst unter Bildung einer klaren Lösung. Die Arzneimittellösung wurde zu der Polymerlösung zugegeben und sorgfältig vermischt und diese Mischung wurde dann tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben, um in Form kleiner Kügelchen zu frieren. Das feste Material wurde zwei Tage lang gefriergetrocknet unter Verwendung eines Edwards-Hochvakuumgefrieretrockners und das getrocknete Material wurde weiter 24 Stunden lang in einem Vakuumofen bei 50 bis 55°C getrocknet.

Dieses getrocknete Produkt (100 mg) wurde zu Dichlormethan (1 ml) zugegeben und es erwies sich, dass es sich innerhalb von 2 Stunden vollständig löste unter Bildung einer klaren Lösung. Dieses Beispiel zeigt, dass die Bildung des Polyestergeroserelinsalzes dem Arzneimittel eine gute Löslichkeit vermittelt, so dass es in einem nicht-polaren Lösungsmittel gelöst werden kann.

iii) Goserelinacetat (2,28 g, äquivalent zu etwa 2,00 g Goserelin als freie Base) wurde in anhydridfreiem Eisessig (60 ml) gelöst. Eine Mischung von 80/20 Mol-% Poly(D,L-Milchsäure/Polyglykolsäure)-Copolymer (12,6 g eines copolymers mit einen gewichtsmittleren Molekulargewicht von 106.510 und einer Polydispersität von 2,27) und ein 95/5 Mol-% Poly-(D,L-Milchsäure/Polyglykolsäure)-Copolymer (5,4 g eines Copolymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 3.896 und einer Polydispersität von 1,78), die einen Überschuss von endständigen Carbonsäuregruppen des Copolymers bezogen auf das basische Arzneimittel lieferten, wurden unter Rühren in anhydridfreiem Eisessig (150 ml) gelöst unter Bildung einer klaren Lösung. Die Arzneimittellösung wurde zu der Copolymerlösung zugegeben und sorgfältig vermischt. Diese Mischung wurde dann tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben, um in Form kleiner Tröpfchen zu frieren, das feste Material wurde 2 Tage lang gefriergetrocknet unter Verwendung eines Edwards-Hochvakuumgefrieretrockners und das getrocknete Material wurde weiter 24 Stunden lang in einem Vakuumofen bei 50 bis 55°C getrocknet.

Dieses getrocknete Produkt (100 mg) wurde zu Dichlormethan (1 ml) zugegeben und es erwies sich, dass es sich innerhalb von 2 Stunden vollständig auflöste, was eine klare Lösung ergab. Dieses Bei-

spiel zeigt, dass die Bildung des Polyester-goserelinsalzes dem Arzneimittel eine gute Löslichkeit vermittelt, so dass es in einem nicht-polaren Lösungsmittel gelöst werden kann.

iv) Goserelinacetat (2,17 g, äquivalent zu etwa 1,90 g Goserelin als freie Base) wurde in anhydridfreiem Eisessig (60 ml) gelöst. Eine Mischung von zwei Poly(D,L-Milchsäure/Polyglykolsäure)-Copolymeren in einem molaren Verhältnis von 67/33 (12,0 g eines Copolymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 35.833 und einer Polydispersität von 1,83 und 5,15 g eines Polymers mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 4.116 und einer Polydispersität von 1,86), die einen Überschuss an endständigen Polymercarbonsäuregruppen bezogen auf das basische Arzneimittel aufwies, wurde unter Rühren in anhydridfreiem Eisessig (150 ml) gelöst unter Bildung einer klaren Lösung. Die Arzneimittellösung wurde zu der Copolymerlösung zugegeben und sorgfältig vermischt. Diese Mischung wurde dann tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben, um in Form kleiner Tröpfchen zu frieren. Das feste Material wurde 2 Tage lang gefriergetrocknet unter Verwendung eines Edwards-Hochvakuumgefrier-trockners und das getrocknete Material wurde 24 Stunden lang weiter getrocknet in einem Vakuumofen bei 50 bis 55°C.

Dieses getrocknete Produkt (100 mg) wurde zu Dichlormethan (1 ml) zugegeben und es erwies sich, dass es sich innerhalb von 10 Minuten vollständig auflöste unter Bildung einer klaren Lösung. Dieses Beispiel zeigt, dass die Bildung des Polyester-goserelinsalzes dem Arzneimittel eine gute Löslichkeit vermittelt, so dass es in einem nicht-polaren Lösungsmittel gelöst werden kann.

#### Vergleichsbeispiel

Goserelinacetat (2,28 g, äquivalent zu etwa 2,00 g Goserelin als freie Base) wurde in anhydridfreiem Eisessig (60 ml) gelöst. Ein 50/50 Mol-% Poly(D,L-Milchsäure/Polyglykolsäure)-Copolymer (18,0 g Polymer mit einem gewichtsmittleren Molekulargewicht von 22.307 und einer Polydispersität von 2,07), das ein ungefähr stöchiometrisches Äquivalent an endständigen Copolymercarbonsäuregruppen bezogen auf das basische Arzneimittel lieferte, wurde unter Rühren in anhydridfreiem Eisessig (150 ml) gelöst unter Bildung einer klaren Lösung. Die Arzneimittellösung wurde zu der Copolymerlösung zugegeben und sorgfältig vermischt. Diese Mischung wurde dann tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben, um in Form kleiner Kugeln zu frieren. Das feste Material wurde 2 Tage lang gefriergetrocknet unter Verwendung eines Edwards-Hochvakuumgefrier-trockners und das getrocknete Material wurde weiter 24 Stunden lang in einem Vakuumofen bei 50 bis 55°C getrocknet.

Dieses getrocknete Produkt (100 mg) wurde zu Dichlormethan (1 ml) zugegeben und es erwies sich, dass es sich nach 4 Stunden nicht vollständig gelöst hatte, es löste sich aber unter Bildung einer klaren Lösung nach 4 Tagen. Dieses Beispiel zeigt, dass die Bildung des Polyester-goserelinsalzes, wodurch dem Arzneimittel eine gute Löslichkeit vermittelt wird, so dass es in einem nicht-polaren Lösungsmittel gelöst werden kann, leichter eintritt, wenn die endständigen Copolymercarbonsäuregruppen im Überschuss bezogen auf das basische Arzneimittel vorhanden sind.

Die getrockneten Produkte i bis iv wurden in Dichlormethan gelöst und sprühgetrocknet unter Verwendung eines Sprüh-trockners Buchi 190 im Labormassstab gemäss der folgenden Tabelle:

Produkt	Verhältnis Produkt zu Lösungsmittel %	Einlasstemp. °C	Auslasstemp. °C
i	10	48	32
ii	10	58	38
iii	2	58	44
iv	10	55	35

Das Sprüh-trocknen der Produkte i bis iv ergab kleine Teilchen mit einem Durchmesser von ungefähr 1 bis 10 µm, bestimmt mit Rasterelektronenmikroskop. Die endgültigen Teilchen wurden getestet auf ihren Essigsäuregehalt unter Verwendung eines Gaschromatographietests mit einer Nachweisgrenze von ungefähr 0,03%. Es wurde in diesen Formulierungen keine Essigsäure gefunden bei Verwendung dieses Tests und dies zeigt, dass das Arzneimittel als Polyestersalz und nicht als Acetatsalz vorhanden ist, da Essigsäuregehalte von ungefähr 0,5% für das Acetatsalz erwartet würden.

Sprühgetrocknete Teilchen (50 mg) i bis iv oben wurden in Dichlormethan (0,5 ml) gelöst, was eine klare Lösung ergab. Ein Tropfen Trifluoressigsäure wurde jeweils zugegeben und in jedem Fall führte dies zur Bildung eines weissen Niederschlags. Die Proben wurden zentrifugiert, um die Niederschläge zu sammeln, die mit Dichlormethan gewaschen wurden. Eine HPLC-Analyse zeigte, dass das ausgefällte Material Goserelin war. Diese Beispiele zeigen, dass das Arzneimittel aus dem Arzneimittelpolyestersalz in Lösung in einem nicht-polaren Lösungsmittel durch Zugabe einer starken Säure verdrängt werden kann und dass dies verursacht, dass die Löslichkeitseigenschaften des Arzneimittels in dem nicht-polaren Lösungsmittel zu den für das saure Salz eines Peptidarzneimittels zu erwartenden (d.h. nicht-löslich) zurückkehren.

Beispiel 12

Die sprühgetrockneten Teilchen i bis iv von Beispiel 11 wurden in einem wässrigen Träger, der zur Injektion geeignet war (2% Natriumcarboxymethylcellulose [Fluka, mittlere Viskosität], 0,2% Polysorbat 80 [Tween (Warenzeichen), Fluka] dispergiert [18% G/V]).

Die sprühgetrockneten Teilchen von Beispiel 11, dispergiert in dem oben beschriebenen Injektionsträger, wurden 10 weiblichen von Wistar stammenden Ratten injiziert. Blutproben wurden aus den Schwänzen von fünf Ratten an den Tagen 7, 14 und 28 entnommen und diese Proben wurden auf Goserelin getestet unter Verwendung eines Radioimmunoassays mit bekannter Spezifität für das Arzneimittel und nachgewiesenem Fehlen einer Kreuzreaktivität mit Metaboliten.

Die Ergebnisse dieser Tests zeigten, dass diese Formulierung messbare Blutpegel von Goserelin für mindestens 4 Wochen erzielte.

Beispiel 13

Das sprühgetrocknete Produkt ii von Beispiel 11 wurde in den folgenden wässrigen Trägern zur Injektion dispergiert:

- a. Natriumcarboxymethylcellulose (mittlere Viskosität, Fluka) 1,0% und Polysorbat 80 (Tween) 0,75%,
- b. Methylcellulose (15 mPa.s, Fluka) 0,75% und Polysorbat 80 (Tween) 0,75%.

Diese Formulierungen wurden gut in diesen Trägern dispergiert und waren geeignet für die parenterale Verabreichung.

Beispiel 14

Das sprühgetrocknete Produkt ii von Beispiel 11 (400 mg) wurde in Dichlormethan (4 ml) gelöst. Diese Lösung wurde unter Verwendung einer Spritze zu einer Lösung von 0,25% Polyvinylalkohol (PVA) in Wasser (Aldrich, 75% hydrolysiert, Molekulargewicht 2.000), die mit 2.500 Upm gerührt wurde, zugegeben. Nach 2 Minuten wurde die Rührgeschwindigkeit auf 800 Upm vermindert, das Rühren wurde weitere 30 Minuten fortgesetzt. Das Rühren wurde dann beendet und die gebildeten Teilchen wurden absetzen gelassen. Die PVA-Lösung wurde dekantiert und die Teilchen wurden dann zweimal mit eiskaltem Wasser gewaschen und durch Zentrifugation gewonnen. Die Teilchen wurden schliesslich durch Gefrierdrehen getrocknet und das Endprodukt war ein feines teilchenförmiges Material, das Goserelin enthielt.

Beispiel 15

Die sprühgetrocknete Formulierung iv von Beispiel 11 wurde bei 82°C extrudiert, was ein zylindrisches Extrudat mit ungefähr 1 mm im Durchmesser ergab. Dieses Extrudat wurde in Stücke geschnitten, die ungefähr 36 mg wogen und ungefähr 3,6 mg Goserelin enthielten. Dieses Extrudat war vollständig klar bis hell, statt ein weisses Aussehen zu haben, wobei letzteres Aussehen typisch ist für eine einfache Mischung von Arzneimittel und Polymer, die ohne die Bildung des Salzes des Peptids mit dem Polyester hergestellt wird (wie zum Beispiel in dem kommerziell erhältlichen «Zoladex»-Depot – «Zoladex» ist ein Warenzeichen). Die Klarheit des Extrudats zeigt, dass das Peptid Goserelin mit der Polyesterphase kompatibel ist statt eine separate Phase zu bilden, was zu einer Lichtstreuung und einem weissen Aussehen führen würde. Diese Kompatibilität kann nur auftreten, wenn das Peptid in derselben Phase wie das Polymer ist, d.h. als Salz des Polyesters vorhanden ist.

Einzelne 3,6-mg-Depots wurden in 21 von Wistar stammende Ratten unter Narkose implantiert. Zu späteren Zeitpunkten wurden Gruppen von 3 Tieren getötet und die Depots wiedergewonnen. Die gewonnenen Depots wurden in Eisessig in einem Messkolben gelöst und das Polymer wurde durch Zugabe von überschüssigem Wasser ausgefällt. Dieses wurde dann filtriert (Millex 0,5 µm) und das Filtrat auf den Arzneimittelgehalt durch HPLC getestet. Die Freisetzungsprofile der Depots wurden berechnet unter Bezugnahme auf den Arzneimittelgehalt der Depots, die nicht implantiert worden waren und in dem gleichen Test enthalten waren. Diese Depots des Arzneimittelpolyestersalzes ergaben in vivo eine andauernde Freisetzung von Goserelin über einen Zeitraum von mindestens 4 Wochen.

Beispiel 16

(i) Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäuregruppe (8,87 g, Mw = 5.750, Polydispersität = 1,5, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 2.516 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,10 dl/g) wurde in Dichlormethan (50 ml) unter Rühren gelöst. Hierzu wurden 1,13 g Goserelinacetat zugegeben, was eine trübe Suspension bildete. Methanol (5 ml) wurde unter Rühren zugegeben und nach 30 Minuten war die Mischung vollständig klar. Das Lösungsmittel wurde dann aus der Lösung entfernt durch Rotationsverdampfen, was einen klaren Feststoff zu-

rückliess. Dieser Feststoff wurde wieder in Dichlormethan (50 ml) gelöst und das Lösungsmittel wurde wiederum durch Rotationsverdampfen entfernt. Die Stufe der Wiederauflösung und die Stufe der Lösungsmittellentfernung wurden zwei weitere Male wiederholt, was eine sehr viskose Flüssigkeit zurückliess, die im Hochvakuum getrocknet wurde, was einen weissen Schaum ergab. Der Schaum wurde gebrochen und im Vakuum weitere 24 Stunden bei Raumtemperatur getrocknet, was einen feinen amorphen Feststoff ergab.

(ii) Das in i) oben beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung eines Lactid/Glykolid-Copolymers (75/25) mit einer einzelnen endständigen Carbonsäuregruppe (8,87 g, Mw = 10.900, Polydispersität = 1,85, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 3.210 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,14 dl/g), was einen feinen amorphen Feststoff ergab.

#### Formulierung 1

Das Goserelin-Lactid/Glykolid-Polymersalz von (i) oben (1 g) wurde zu Benzylbenzoat (99%, von Janssen, 2 ml) zugegeben und unter Verwendung einer in der Hand gehaltenen Heissluftdruckflasche bzw. einem Heissluftstrahlsystem erhitzt, während die Mischung gerührt wurde, bis der Feststoff gelöst war. 110 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 2

Wie Formulierung 1, ausser dass das Lösungsmittel eine Mischung (1,7 ml) von 67% Benzylbenzoat (99%, von Janssen) und 33% Benzylalkohol (wasserfrei, 99%, von Aldrich) war. 100 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 3

Wie Formulierung 1, ausser dass das Lösungsmittel Benzylalkohol (1,7 ml, wasserfrei, 99%, von Aldrich) war. 100 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 4

Wie Formulierung 1, ausser dass das Goserelin-Lactid/Glykolid-Polymersalz von (ii) oben (1 g) und 3 ml Benzylbenzoat verwendet wurden. 150 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 5

Wie Formulierung 4, ausser dass die Lösungsmittelmischung von Formulierung 2 verwendet wurde. 100 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 6

Wie Formulierung 4, ausser dass das Lösungsmittel von Formulierung 3 verwendet wurde. 100 µl dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Biologische Auswertung

Die Freisetzung von Goserelin aus den obigen Formulierungen 1 bis 6 in vivo wurde bestimmt, indem täglich vaginalabstriche von weiblichen Ratten, die das Mittel erhalten hatten, untersucht wurden. Der normale Östruszyklus (Östrus, Diöstrus, Metöstrus, Proöstrus) kann verfolgt werden an den Anteilen der verschiedenen Zellarten (Leukozyten, Epithelzellen und verhornte Zellen) im Abstrich. Wenn die Freisetzung des Arzneimittels aus den Formulierungen kontinuierlich ist, wird der normale Östruszyklus unterbrochen und die Ratten bleiben im Diöstrus, solange die Freisetzung von Goserelin andauert.

Die Formulierungen 1 bis 6 wurden den Gruppen (n = 6) mit weiblichen Ratten mit regulärem Zyklus in einer Dosis von 3,6 mg Goserelin pro Ratte gegeben. Eine Spritze, die mit einer 20#-Nadel versehen war, wurde verwendet, um die Formulierungen subkutan zu geben. Eine Gruppe von 5 Ratten, die kein Arzneimittel erhielt, wurde als Kontrollgruppe verwendet. Vaginalabstriche wurden täglich von den Ratten genommen und untersucht, um den Östruszustand der Tiere zu bestimmen, und die erhaltenen Ergebnisse waren wie folgt:

	Formulierung Nr.	Durchschnittliche Dauer des Diöstrus (Tage) ( $\pm$ s.e.)
5	1	100 $\pm$ 2,7
	2	120 $\pm$ 6,3
	3	69 $\pm$ 5,9
	4	59 $\pm$ 1,2
10	5	61 $\pm$ 2,1
	6	53 $\pm$ 3,7

15 Diese Ergebnisse zeigen, dass alle sechs Formulierungen Zeiträume der Goserelinfreisetzung von mehr als 6 Wochen ergaben, und dass die Formulierungen 1 und 2 Goserelin über einen Zeitraum von 3 Monaten oder mehr freisetzten. Es zeigt sich weiterhin an diesen Beispielen, dass die Formulierungen des Goserelinpolyestersalzes als Lösungen geliefert werden können, die leicht parenteral verabreicht werden können unter Verwendung einer dünnen Nadel, und dass solche Formulierungen geeignet sind zur Behandlung von hormonabhängigen Tumoren bei Männern.

20 Beispiel 17

#### Formulierung 1

25 Wie Formulierung 1 von Beispiel 16.

#### Formulierung 2

30 Das in Beispiel 16(i) beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung eines Polyactidhomopolymers mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (Mw = 5.092, Polydispersität = 1,44, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 2.270 g/Mol) und Goserelinacetat (0,46 g). Der Essigsäuregehalt dieses amorphen Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 0,14%.

35 Dieses Goserelinactidpolymersalz (1 g) wurde zu Benzylbenzoat (99%, von Janssen, 2 ml) zugegeben und unter Verwendung einer in der Hand gehaltenen Heissluftdruckflasche erhitzt, wobei die Mischung gerührt wurde, bis der Feststoff gelöst war. 110  $\mu$ l dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

#### Formulierung 3

40 Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (7,86 g, Mw = 5.750, Polydispersität = 1,50, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 2.516 g/Mol) und Goserelinacetat (0,98 g) wurden in Eisessig (100 ml) gelöst. Diese Lösung wurde eingefroren, indem sie tropfenweise zu flüssigem Stickstoff zugegeben wurde, und anschliessend 2 Tage gefriergetrocknet wurde. Der entstehende Feststoff wurde dann weitere 24 Stunden bei 40°C getrocknet. Der Essigsäuregehalt dieses gefriergetrockneten Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 0,17%.

45 Diese Goserelin-Lactid/Glykolid-Copolymermischung (1 g) wurde zu Benzylbenzoat (2 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und unter Verwendung einer in der Hand gehaltenen Heissluftdruckflasche erhitzt, während die Mischung gerührt wurde, bis der Feststoff gelöst war. 110  $\mu$ l dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

50 Es zeigt sich daher, dass die Formulierung von Goserelin als Polyestersalz dem Arzneimittel gute Löslichkeitseigenschaften vermittelt, so dass es in lipophilen Lösungsmitteln wie Benzylbenzoat gelöst werden kann, in denen Goserelinacetat selbst nicht löslich ist.

#### 55 Biologische Auswertung

Die Formulierungen 1 bis 3 wurden Gruppen (n = 10) von weiblichen Ratten mit regulärem Zyklus in einer Dosis von 3,6 mg Goserelin pro Ratte gegeben, wie in Beispiel 16 beschrieben. Nach der Verabreichung wurde gefunden, dass die Tiere in eine Periode eines kontinuierlichen Diöstrus eintraten, was auf die kontinuierliche Freisetzung von Goserelin hinweist. Die durchschnittliche Dauer der Diöstrusperiode für jede Gruppe von Ratten ist in der folgenden Tabelle angegeben. Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, dass alle drei Formulierungen Perioden der Goserelinfreisetzung von mehr als 14 Wochen lieferten.

65

	Formulierung Nr.	Durchschnittliche Dauer des Diöstrus (Tage) ( $\pm$ s.e.)
5	1	104 ( $\pm$ 5,4)
	2	99 ( $\pm$ 3,9)
	3	101 ( $\pm$ 2,8)

10 Diese Beispiele zeigen weiterhin, dass die Formulierungen des Goserelinpolyestersalzes als Lösungen zur Verfügung gestellt werden können, die leicht parenteral verabreicht werden können unter Verwendung einer dünnen Nadel, und dass solche Formulierungen geeignet sind für die Behandlung von hormonabhängigen Tumoren bei Männern.

#### 15 Beispiel 18

##### Formulierung 1

20 Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (4,5 g, Mw = 6.806, Polydispersität = 1,55, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 3.027 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,108 dl/g) wurde in Eisessig (50 ml) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Goserelinacetat (0,56 g, äquivalent zu 0,5 g Goserelin) zugegeben und die Mischung wurde 10 Minuten gerührt, was eine klare farblose Lösung ergab. Diese wurde gefroren durch tropfenweise Zugabe zu flüssigem Stickstoff und anschliessendes zweitägiges Gefrier-trocknen.

25 Der entstehende Feststoff wurde dann weitere 24 Stunden bei 40°C getrocknet. Der Essigsäuregehalt des gefriergetrockneten Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 0,3%.

Die Goserelin-Lactid/Glykolid-Copolymermischung (1,0 g) wurde zu Benzylbenzoat (2,0 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und unter Erwärmen und Rühren gelöst. Die endgültige Lösung enthielt 3,67 mg Goserelin in 110  $\mu$ l und der Goserelingegehalt des Endproduktes war 10,0% G/G.

30

##### Formulierung 2

Das oben für Formulierung 1 beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung eines Lactid/Glykolid-Copolymers (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (4,0 g, Mw = 6.011, Polydispersität = 1,56, Molekulargewicht durch Endgruppentitration 2.700 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,099 dl/g) und 1,12 g Goserelinacetat (äquivalent zu 1,0 g Goserelin). Der Essigsäuregehalt dieses gefriergetrockneten Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 0,83% und der Goserelingegehalt des Endproduktes war 19,46% G/G.

40 Diese Goserelin-Lactid/Glykolid-Copolymermischung (0,54 g) wurde zu Benzylbenzoat (2,46 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und unter Erwärmen und Rühren gelöst. Die endgültige Lösung enthielt 3,50 mg Goserelin in 110  $\mu$ l.

##### Formulierung 3

45 Das oben für Formulierung 2 beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung von 2,1 g Lactid/Glykolid-Copolymer und 1,0 g Goserelinacetat (äquivalent zu 0,9 g Goserelin). Der Essigsäuregehalt dieses gefriergetrockneten Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 1,14% und der Goserelingegehalt des Endproduktes war 28,91% G/G.

50 Diese Goserelin-Lactid/Glykolid-Copolymermischung (0,36 g) wurde zu Benzylbenzoat (2,64 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und wurde unter Erwärmen und Rühren gelöst. Die endgültige Lösung enthielt 3,47 mg Goserelin in 110  $\mu$ l.

##### Formulierung 4

55 Das oben für Formulierung 1 beschriebene Verfahren wurde wiederholt unter Verwendung eines Lactid/Glykolid-Copolymers (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (8,66 g, Mw = 5.604, Polydispersität = 1,71, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 1.960 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,094 dl/g) und 1,08 g Goserelinacetat (äquivalent zu 0,96 g Goserelin). Der Essigsäuregehalt dieses gefriergetrockneten Feststoffs wurde mit Gaschromatographie bestimmt und war 0,08% und der Goserelingegehalt des Endproduktes war 9,90% G/G.

60 Diese Goserelin-Lactid/Glykolid-Copolymermischung (1,0 g) wurde zu Benzylbenzoat (2,0 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und unter Erwärmen und Rühren gelöst. Die endgültige Lösung enthielt 3,67 mg Goserelin in 110  $\mu$ l.

65

Biologische Auswertung

Die Formulierungen 1 bis 4 wurden Gruppen (n = 9 oder 10) von weiblichen Ratten mit regulärem Zyklus in einer Dosis von 3,6 mg Goserelin pro Ratte gegeben, wie in Beispiel 16 beschrieben. Nach der Verabreichung zeigte sich, dass die Tiere in eine Periode eines kontinuierlichen Diöstrus eintraten, was auf eine kontinuierliche Freisetzung von Goserelin deutet. Die durchschnittliche Dauer der Diöstrusperiode für jede Gruppe von Ratten ist in der folgenden Tabelle angegeben. Diese Tabelle zeigt, dass alle drei Formulierungen Perioden der Goserelinfreisetzung für einen Zeitraum von etwa 3 Monaten oder mehr ergaben.

Formulierung Nr.	Durchschnittliche Dauer des Diöstrus (Tage) ( $\pm$ s.e.)
1	114 $\pm$ 1,8
2	94 $\pm$ 4,6
3	97 $\pm$ 5,3
4	83 $\pm$ 4,3

Diese Beispiele zeigen weiter, dass die Formulierungen des Arzneimittelpolyestersalzes als Lösungen zur Verfügung gestellt werden können, die leicht parenteral verabreicht werden können unter Verwendung einer dünnen Nadel, und dass solche Formulierungen geeignet sind zur Behandlung von hormonabhängigen Tumoren bei Männern.

Beispiel 19

Das Goserelinpolyestersalz (ii) von Beispiel 16 (3,75 g) wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst, das vorher durch ein 0,45  $\mu$ m Filter filtriert worden war. Diese Lösung wurde durch eine 0,5  $\mu$ m Teflonfiltermembran (Whatman WTP) in einen Kolben filtriert, der unter Verwendung eines Autoklaven sterilisiert worden war. Das Lösungsmittel wurde entfernt unter Verwendung eines Rotationsverdampfers, was eine viskose Flüssigkeit ergab, und Luft wurde dann in den Rotationsverdampfer durch ein 0,5  $\mu$ m Filter gelassen. Die viskose Flüssigkeit wurde erwärmt und im Vakuum getrocknet, was einen weissen Schaum ergab. Der erhaltene Schaum wurde in autoklavierte Fläschchen mit gekräuseltem Deckel in einem Schrank mit Laminarströmung eingewogen und frisch destilliertes Lösungsmittel wurde zugegeben, was Lösungsformulierungen des Goserelinpolyestersalzes ergab, die im wesentlichen teilchenfrei waren.

Formulierung 1

1 g des Feststoffs wurde zu Benzylbenzoat (destilliert, Siedepunkt 106°C bei 0,3 mb, 3 ml) zugegeben und unter Verwendung einer Heissluftdruckflasche erwärmt, bis er gelöst war. 145  $\mu$ l dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

Formulierung 2

1 g des Feststoffs wurde zu Benzylalkohol (destilliert, Siedepunkt 44°C bei 0,3 mb, 1,7 ml) zugegeben und unter Verwendung einer Heissluftdruckflasche erwärmt, bis er gelöst war. 100  $\mu$ l dieser Lösungsformulierung enthielten 3,6 mg Goserelin.

Biologische Auswertung

Zwei Gruppen von 10 weiblichen Ratten erhielten subkutan Formulierungen 1 und 2 in einer Dosis von 3,6 mg pro Ratte unter Verwendung einer 20# Nadel. Blutproben wurden den Ratten zu aufeinanderfolgenden Zeitpunkten entnommen (1 Woche (n = 4), 4 Wochen und 6 Wochen (n = 3)). Die Blutproben wurden auf Goserelin mit Hilfe eines Radioimmunoassay getestet. Messbare Blutpegel von Goserelin wurden bei beiden Formulierungen gefunden, was zeigt, dass die Lösungsformulierungen eine mehrere Wochen lang dauernde Arzneimittelfreisetzung lieferten. Das Blutpegelprofil der Formulierung 1 zeigte einen Peak bei etwa 4 Wochen, während bei Formulierung 2 der Peak in Woche 1 auftrat und danach die Blutpegel mit der Zeit nach und nach abfielen. Das Blutpegelprofil von Formulierung 1 wird als wünschenswerter betrachtet als das von Formulierung 2 wegen der konstanteren Blutpegel, die erhalten werden, wenn Benzylbenzoat als Lösungsmittel für die Lösungsformulierung verwendet wird.

Diese Beispiele zeigen weiter, dass die Formulierungen des Arzneimittelpolyestersalzes als Lösungen zur Verfügung gestellt werden können, die leicht parenteral verabreicht werden können unter Verwen-

dung einer dünnen Nadel, und dass solche Formulierungen geeignet sind zur Behandlung von hormonabhängigen Tumoren bei Männern.

#### Beispiel 20

5

Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzelnen endständigen Carbonsäure (9,0 g, Mw = 6.011, Polydispersität = 1,56, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 2.700 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/v in Chloroform = 0,099 dl/g) wurde in Dichlormethan (100 ml) gelöst. Zu dieser Lösung wurde Goserelinacetat (1,124 g, äquivalent 1 g Goserelin) unter Rühren zugegeben und anschliessend wurde Methanol (10 ml) zugegeben. Die erhaltene trübe Suspension wurde bei Raumtemperatur etwa 1 Stunde gerührt, bis eine klare Lösung erhalten wurde. Das Lösungsmittel wurde entfernt unter Verwendung eines Rotationsverdampfers, was eine klare viskose Flüssigkeit lieferte. Diese wurde dann wieder in Dichlormethan aufgelöst und wieder getrocknet wie vorher. Diese Stufe wurde zwei weitere Male wiederholt und die schliesslich erhaltene viskose Flüssigkeit wurde in Hochvakuum getrocknet, was einen weissen Schaum erzeugte, der weiterhin über Nacht vakuumgetrocknet wurde. Der Schaum wurde gebrochen zu einem feinen Pulver, das 1 Tag bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet wurde. Zu diesem Pulver wurde Benzylbenzoat (20 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und die entstehende Mischung wurde vorsichtig erwärmt unter Rühren, um eine Lösung zu erhalten.

#### Biologische Auswertung

20

Diese Lösungsformulierung von Goserelin wurde subkutan unter Verwendung einer 20# Nadel 45 weiblichen Ratten gegeben (220 µl, äquivalent 7,3 mg Goserelin). Gruppen von 5 Ratten wurden erstellt und Blutproben wurden an den Tagen 1 und 4 und in den Wochen 1, 3, 5, 7, 9, 11 und 13 entnommen. Ausserdem wurden Blutproben aus der Schwanzvene von Gruppen von 5 Ratten in den Wochen 2, 4, 6, 8, 10 und 12 entnommen. Die Proben wurden auf Goserelin analysiert mit Hilfe eines Radioimmunoassays und die Ergebnisse zeigen, dass die flüssige Formulierung von Goserelinpolyestersalz messbare Blutpegel des Arzneimittels 11 Wochen lang nach der Gabe lieferte und zeigen, dass die Formulierung eine dauernde Freisetzung von Goserelin in vivo liefert.

25

Diese Beispiele zeigen weiterhin, dass die Formulierungen des Arzneimittelpolyestersalzes in Form von Lösungen zur Verfügung gestellt werden können, die leicht parenteral verabreicht werden können unter Verwendung einer dünnen Nadel, und dass solche Formulierungen geeignet wären zur Behandlung von hormonabhängigen Tumoren bei Männern.

#### Beispiel 21

35

Das als Substanz P bekannte Peptid in Form des Acetatsalzes (von Sigma, 2 mg) wurde zu Dichlormethan (3 ml) zugegeben und sorgfältig gerührt. Das Peptid zeigte keinen Hinweis auf ein Auflösen in dem Lösungsmittel und blieb eine trübe Suspension.

40

Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (70/30) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (225 mg, Mw = 9.755, Polydispersität = 1.52, Molekulargewicht gemäss Endgruppentitration = 1.800) wurde zu Dichlormethan (25 ml) zugegeben. Dieses wurde 15 Minuten gerührt, was eine klare farblose Lösung ergab. Diese Lösung wurde zu einer Lösung der Substanz P (25 mg) in Methanol (0, 5 ml) zugegeben. Die entstehende trübe Suspension wurde 1 Stunde gerührt, wonach sich eine vollständig klare Lösung gebildet hatte. Das Lösungsmittel wurde durch Rotationsverdampfen entfernt und der erhaltene klare «glasartige» Feststoff wurde wieder in Dichlormethan (5 ml) gelöst und wieder verdampft. Dieses wurde zweimal wiederholt. Der endgültige Feststoff wurde in Dichlormethan (3 ml) gelöst und die Lösung wurde langsam auf mit PTFE beschichtetes Gewebe getropft, wobei das Lösungsmittel verdampfen gelassen wurde unter Bildung eines dünnen Films eines klaren farblosen glasartigen Feststoffs (Peptidgehalt 9,1% G/G).

45

Dieser Film (96,8 mg) wurde in ein kleines Gläschen gebracht und phosphatgepufferte Kochsalzlösung (2 ml, pH 7,4) wurde zugegeben (der Puffer wurde vorher durch ein 0,2 µm Filter filtriert und enthielt 0,02% Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Gläschen wurde in einen Inkubator mit 37°C gestellt und der Puffer wurde entfernt und periodisch ersetzt. Der Puffer, der entfernt wurde, wurde auf Freisetzung der Substanz P analysiert unter Verwendung eines Ultraviolettspektrophotometers (Hewlett Packard 8452A) bei 210 nm gegen Standardlösungen der Substanz P. Die Ergebnisse zeigen, dass Substanz P in Dichlormethan gelöst werden kann, wenn ein Salz eines Lactid/Glykolid-Copolymers mit endständigen Carboxygruppen gebildet wird, und in diesem Lösungsmittel verarbeitet werden kann, wobei sich ein dünner Film ergibt, der eine kontinuierliche Freisetzung des Peptids über einen Zeitraum von etwa 4 Wochen liefert.

#### Beispiel 22

50

Eine wässrige Lösung von Leuprolidacetat (auch bekannt als Leuprorelinacetat) (300 µl einer 330 mg/ml Lösung) wird unter hoher Scherung zu 20 ml einer 10% G/G Lösung von Poly(hydroxystea-

55

60

rinsäure) mit einem zahlenmittleren Molekulargewicht von etwa 2.000 in Miglyol 812 (Triglyceride von gesättigten Fettsäuren mit mittlerer Kettenlänge einschliesslich Linolensäure, von Dynamit Nobel, GB) zugegeben unter Bildung des Leuprolidpolymersalzes teilweise an der Öl/Wasser-Grenzfläche, wobei das Salz die entstehende kolloidale Wasser-in-Öl-Suspension stabilisiert. Das Wasser wird bei 50°C unter Rühren im Hochvakuum entfernt, bis die Mischung nicht mehr schäumt und Blasen gibt, was eine ölige Zusammensetzung liefert, die eine sehr geringe Trübung zeigt und die für die orale Verabreichung geeignet ist.

#### Beispiel 23

Lys<sup>8</sup>-Vasopressinacetatsalz (2 mg, von Sigma) wurde zu Dichlormethan (3 ml) zugegeben und gerührt. Das Peptid zeigte keinen Hinweis darauf, dass es sich in dem Lösungsmittel löste und blieb eine trübe Suspension.

Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (70/30) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (225 mg, Mw = 9.755, Polydispersität = 1,52, Molekulargewicht gemäss Endgruppentitration = 1.800) wurde zu Dichlormethan (5 ml) zugegeben. Diese Mischung wurde 15 Minuten gerührt, was eine klare farblose Lösung ergab. Hierzu wurde Lys<sup>8</sup>-Vasopressin (25 mg, von Sigma) und Methanol (0,5 ml) zugegeben. Die entstehende trübe Suspension wurde 1 Stunde gerührt, wonach sich eine vollständig klare Lösung gebildet hatte. Das Lösungsmittel wurde durch Rotationsverdampfen entfernt und der erhaltene klare «glasartige» Feststoff wurde wieder in Dichlormethan (5 ml) gelöst und wieder eingedampft. Dieses wurde zweimal wiederholt. Der endgültige Feststoff wurde in Dichlormethan (3 ml) gelöst und die Lösung wurde langsam auf mit PTFE beschichtetes Gewebe getropft, so dass das Lösungsmittel verdampfen konnte unter Bildung eines dünnen Films eines klaren farblosen glasartigen Feststoffs (Lys<sup>8</sup>-Vasopressingehalt 10% G/G).

Dieser Film (97,31 mg) wurde in ein kleines Gläschen gelegt und phosphatgepufferte Kochsalzlösung (2 ml, pH 7,4) wurde zugegeben (der Puffer wurde vorher durch ein 0,2 µm Filter filtriert und enthielt 0,02% Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Gläschen wurde in einen Inkubator mit 37°C gestellt und der Puffer wurde periodisch entfernt und ersetzt. Der Puffer wurde analysiert auf die Freigabe von Lys<sup>8</sup>-Vasopressin unter Verwendung eines Ultraviolettpektrophotometers (Hewlett Packard 8452A) bei 210 nm gegen Standardlösungen von Lys<sup>8</sup>-Vasopressin. Die Ergebnisse dieses Tests sind in der folgenden Tabelle gezeigt. Der Versuch zeigt, dass Lys<sup>8</sup>-Vasopressin in Dichlormethan gelöst werden kann, wenn das Salz eines Lactid/Glykolid-Copolymers mit endständigen Carboxygruppen gebildet wurde, und dass die entstehende Mischung eine kontinuierliche Freisetzung des Peptids über einen Zeitraum von mindestens 4 Wochen liefert.

#### Freisetzung von Lys<sup>8</sup>-Vasopressin in vitro

Zeit (Tage)	Freisetzung von Lys <sup>8</sup> -Vasopressin aus dem Film (%)
1	4,11
4	5,45
7	5,55
14	5,75
21	26,82
28	47,27

#### Beispiel 24

Zwei Formulierungen von ZENECA ZD6003 ([Met<sup>-1</sup>, Arg<sup>11</sup>, Ser<sup>17,27,60,65</sup>]-Human G-CSF (Granulozyt-kolonien stimulierender Faktor) modifiziert mit Polyethylenglykol 5.000 wie in Referenzbeispiel 4 oder 7 der Europäischen Patentschrift Nr. 0 473 268 beschrieben) in Lactid/Glykolid-Copolymer wurden wie folgt hergestellt.

(i) Dichlormethan (4 ml) wurde zu einem gefriergetrockneten Präparat von ZD6003 (39,72 mg) zugegeben. Dies führte zu einer lichtundurchlässigen Dispersion des Arzneimittels in dem Lösungsmittel. Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (75/25) mit einer einzelnen endständigen Carbonsäure (363,6 mg, Mw = 9.963, Polydispersität = 2,19, Molekulargewicht gemäss Endgruppentitration = 2.815) wurde zugegeben und eine klare Lösung bildete sich.

Diese Lösung wurde zu einer Lösung (400 ml) von Methylcellulose (0,25% G/V Methocel, 15 mpa.s, von Fluka) in Wasser unter Scherung (2.150 Upm, Heidolph RZR50 Rührer) zugegeben. Nach dreiminütigem Rühren bei dieser Geschwindigkeit wurde die Rührgeschwindigkeit auf 800 Upm vermindert.

Die entstehenden Teilchen wurden dann unter Schwerkraft 30 Minuten lang absetzen gelassen, wobei die Lösung über Eis kühl gehalten wurde. Der Überstand wurde dann verworfen und die Teilchen wurden gewaschen, indem sie in eiskaltem destilliertem Wasser (50 ml) wieder suspendiert wurden und mit 1.000 Upm zentrifugiert wurden. Dies wurde viermal wiederholt und die Teilchen wurden schliesslich gefriergetrocknet.

Auf diese Weise hergestellte Teilchen hatten eine gute Qualität, waren kugelförmig und hatten eine mittlere Grösse von 32  $\mu\text{m}$ , bestimmt durch Bildanalyse eines optischen Mikroskops. Der Arzneimittelgehalt dieser Teilchen wurde bestimmt durch Extraktion und anschliessende HPLC Analyse und war 9,45%, was eine Einarbeitungseffizienz von 96% des zur Bildung der Mikroteilchen verwendeten Arzneimittels bedeutet.

(ii) Dichlormethan (4 ml) wurde zu einem gefriergetrockneten Präparat von ZD6003 (44,18 mg) zugegeben. Dies führte zu einer lichtundurchlässigen Dispersion des Arzneimittels in dem Lösungsmittel. Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (75/25, 364,1 mg, Mw = 16.800 gemäss Grössenausschlusschromatographie, Polydispersität = 2,2, von Boehringer Ingelheim) wurde zugegeben. Ein Versuch, das Molekulargewicht des Polymers durch Endgruppentitration zu bestimmen, wurde durchgeführt, war aber nicht möglich aufgrund der sehr geringen Gehalte an titrierbaren Einheiten und daher hatte dieses Polymer keine endständigen Carbonsäuren. Die Mischung der Arzneimittellösung und des Polymers wurde nicht klar nach Zugabe des Polymers und die Mischung blieb eine trübe Dispersion, was darauf hindeutet, dass sich kein Peptid-Polyester-Salz bilden konnte, was, wegen der Abwesenheit von sauren Endgruppen bei dem Polymer, zu erwarten war.

Diese Mischung wurde zu einer Lösung (400 ml) von Methylcellulose (0,25% G/V Methocel, 15 mPa.s, Fluka) in Wasser unter Scherung (2.150 Upm, Heidolph RZR50 Rührer) zugegeben. Nach dreiminütigem Rühren bei dieser Geschwindigkeit wurde die Rührgeschwindigkeit auf 800 Upm vermindert. Die entstehenden Teilchen wurden dann 30 Minuten lang unter Schwerkraft absetzen gelassen, wobei die Lösung über Eis kühl gehalten wurde. Der Überstand wurde dann verworfen und die Teilchen wurden gewaschen, indem sie in destilliertem Wasser (50 ml) wieder suspendiert wurden und bei 1.000 Upm zentrifugiert wurden. Dies wurde viermal wiederholt und die Teilchen wurden dann schliesslich gefriergetrocknet.

Auf diese Weise hergestellte Teilchen hatten eine schlechter Qualität verglichen mit denen, die in (i) oben erhalten wurden, wobei einige eine unregelmässige Form hatten und eine mittlere Grösse von 40  $\mu\text{m}$ , bestimmt durch Bildanalyse des optischen Mikroskops. Der Arzneimittelgehalt dieser Teilchen wurde bestimmt durch Extraktion und anschliessende HPLC Analyse und war 2,05%, was eine Einarbeitungseffizienz von 19% für das zur Bildung der Mikroteilchen verwendete Arzneimittel bedeutet.

Das obige Beispiel zeigt, dass ZD6003 in Dichlormethan gelöst werden kann in Gegenwart eines Polymers mit einer einzelnen endständigen Carbonsäure, obwohl Dichlormethan selbst ein Nichtlösungsmittel für das Arzneimittel ist. Ausserdem kann eine solche Lösung verwendet werden zur Bildung von Mikroteilchen des Arzneimittels und des Polymers mit einer sehr hohen Einarbeitungsrate des Arzneimittels. Im Gegensatz dazu zeigt das obige Beispiel auch, dass ZD6003 nicht in Dichlormethan gelöst werden kann in Gegenwart eines Polymers, wenn ein solches Polymer keine endständige Carbonsäure aufweist, und nur eine trübe Dispersion bildet. Weiterhin führen solche trüben Dispersionen von ZD6003 in einer Lösung des Polymers mit keinen endständigen Carbonsäuren zu einem schlechten Einbau des Arzneimittels, wenn dieses unter Bildung von Mikroteilchen verarbeitet wird.

#### Beispiel 25

(i) Goserelinacetat (22,47 mg, äquivalent zu 19,99 mg Goserelin) wurde zu Benzylbenzoat (2,21 g, 99%, von Janssen) zugegeben. Diese Mischung wurde in einen Inkubator mit 40°C gestellt und 9 Tage kontinuierlich unter Verwendung eines Magnetrührers gerührt. Nach 2 und nach 9 Tagen wurden Aliquots entnommen und 15 Minuten mit 13.000 Upm zentrifugiert, um nichtgelöstes Arzneimittel zu pelletisieren. Aliquots des Überstandes (ungefähr 100 mg) wurden genau in 50-ml-Messkolben eingewogen. Zu jedem wurde Eisessig zugegeben (2 ml) und anschliessend das Volumen mit einer wässrigen Lösung von Trifluoressigsäure (0,5% V/V) aufgefüllt. Ein Teil dieser Lösung wurde in ein Zentrifugenröhrchen gestellt und mit 13.000 Upm 15 Minuten lang zentrifugiert, um suspendiertes Material abzutrennen. Der Überstand wurde dann auf den Goserelingehalt getestet unter Verwendung von HPLC. In keiner Probe war Goserelin nachweisbar. Die Nachweisgrenze für Goserelin bei diesem HPLC Test war 0,2  $\mu\text{g/ml}$  und die Quantitätsbestimmungsgrenze war 0,5  $\mu\text{g/ml}$ . Somit kann die Gleichgewichtslöslichkeit (bei 40°C) von Goserelin in Benzylbenzoat abgeschätzt werden aus dem obigen als weniger als 0,2  $\mu\text{g/mg}$ .

(ii) Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (291,9 mg, Mw = 6.742, Polydispersität = 1,61, Molekulargewicht durch Endgruppentitration = 2565 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/Vin Chloroform = 0,103 dl/g) wurde zu Benzylbenzoat (3,38 g, 99%, von Janssen) unter Bildung einer Lösung zugegeben. Hierzu wurde Goserelinacetat (22,52 mg, äquivalent zu 20,03 mg Goserelin) zugegeben. Diese Mischung wurde inkubiert und wie oben in (i) untersucht. Es war kein Goserelin nachweisbar in dem Benzylbenzoat nach 2 Tagen, aber nach 9 Tagen wurde ein Gehalt von un-

gefähr 0,2 µg Goserelin pro mg Benzylbenzoat nachgewiesen. Die Nachweisgrenze für Goserelin in diesem HPLC Test war wie in (i) oben angegeben. Dies zeigt, dass die Gleichgewichtslöslichkeit (bei 40°C) von Goserelin in Benzylbenzoat, wenn es als einfache Mischung mit einem Lactid/Glykolid-Copolymer vorhanden ist, abgeschätzt werden kann mit 0,2 bis 0,5 µg/mg.

5 (iii) Ein Lactid/Glykolid-Copolymer (95/5) mit einer einzigen endständigen Carbonsäure (9,0 g, Mw = 6.011, Polydispersität = 1,56, Molekulargewicht gemäss Endgruppentitration = 2.700 g/Mol, Eigenviskosität bei 1% G/V in Chloroform = 0,099 dl/g) wurde in Dichlormethan (100 ml) gelöst. Hierzu wurde Goserelinacetat (1,124 g, äquivalent 1 g Goserelin) unter Rühren zugegeben und anschliessend wurde Methanol (10 ml) zugegeben. Die erhaltene trübe Suspension wurde bei Raumtemperatur etwa 1 Stunde gerührt, bis eine klare Lösung erhalten wurde. Das Lösungsmittel wurde entfernt unter Verwendung eines Rotationsverdampfers, was eine klare viskose Flüssigkeit ergab. Diese wurde wieder in Dichlormethan aufgelöst und wieder getrocknet wie vorher. Diese Stufe wurde dann zwei weitere Male wiederholt und die schliesslich erhaltene viskose Flüssigkeit wurde im Hochvakuum getrocknet, was einen weissen Schaum erzeugte, der weiter über Nacht im Vakuum getrocknet wurde. Der Schaum wurde zu einem feinen Pulver gebrochen, das im Vakuum 1 Tag bei Raumtemperatur getrocknet wurde. Zu diesem Pulver wurde Benzylbenzoat (20 ml, 99%, von Janssen) zugegeben und die entstehende Mischung wurde vorsichtig unter Rühren erwärmt, um eine Lösung zu erhalten.

10 Die Lösung wurde sorgfältig gemischt und eine 1-ml-Probe wurde in eine Zentrifuge gestellt und 30 Minuten mit 14.000 Upm zentrifugiert. Ein Aliquot des Überstandes wurde sorgfältig entfernt und in einen 50-ml-Messkolben eingewogen. Die Probe wurde auf den Goserelingegehalt untersucht, wie in (i) beschrieben. Der Goserelingegehalt dieser Lösung war 24,6 µg/mg Benzylbenzoat.

15 Dieses Beispiel zeigt, dass Benzylbenzoat ein sehr schlechtes Lösungsmittel für Goserelinacetat ist. Weiterhin führt die Zugabe eines Lactid/Glykolid-Polymers unter Bildung einer einfachen Mischung mit Goserelinacetat in Benzylbenzoat nicht zu einem merklichen Anstieg der Gleichgewichtslöslichkeit von Goserelinacetat in Benzylbenzoat. Jedoch konnte Goserelin/Polyestersalz in Benzylbenzoat gelöst werden unter Bildung einer Lösung, die Goserelin in einer sehr viel höheren Konzentration enthielt als die geschätzte Gleichgewichtslöslichkeit von freiem Goserelin in diesem Lösungsmittel.

### 30 Patentansprüche

1. Salz, welches aus einem Kation, das aus einem mindestens eine basische Gruppe enthaltenden Peptid stammt, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, gebildet ist.

35 2. Salz nach Anspruch 1 in einer Lösung.

3. Salz nach Anspruch 2 in Lösung in einem Lösungsmittel, welches aus einem neutralen, polaren Lösungsmittel, Dichlormethan und einem Lösungsmittel, das durch Frieren und Gefriertrocknen entfernt werden kann, ausgewählt ist.

40 4. Salz nach Anspruch 3, wobei das neutrale, polare Lösungsmittel ausgewählt ist aus Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid und N-Methylpyrrolidon.

5. Salz nach Anspruch 3, wobei das durch Frieren und Gefriertrocknen entfernbare Lösungsmittel Essigsäure ist.

6. Salz nach Anspruch 2, wobei das Lösungsmittel durch Sprühtrocknen entfernt werden kann.

45 7. Verfahren zur Herstellung einer Lösung oder Dispersion eines Salzes nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man

(a) das Peptid, das mindestens eine basische Aminosäure enthält, in Form der freien Base oder in Form eines Salzes mit einer schwachen Säure und den Polyester mit endständigen Carboxygruppen in einem neutralen polaren Lösungsmittel, in dem beide löslich sind, löst, das Lösungsmittel oder den grössten Teil des Lösungsmittels entfernt und die verbleibende konzentrierte Lösung zu einem Überschuss eines Nichtlösungsmittels für das Peptid-Polyester-Salz zugibt, oder

50 (b) das Peptid, das mindestens eine basische Aminosäure enthält, in Form der freien Base oder in Form eines Salzes mit einer schwachen Säure und den Polyester mit endständigen Carboxygruppen in einem Lösungsmittel, in dem beide löslich sind und das durch Gefriertrocknen entfernt werden kann, löst, die entstehende Lösung mit hoher Geschwindigkeit einfriert, die entstehende gefrorene Mischung gefriertrocknet, die entstehende Mischung in einem Lösungsmittel für die Polyesterkomponente dispergiert und die Mischung sich lösen lässt, wenn sich das Peptid-Polyester-Salz bildet.

55 8. Verfahren zur Herstellung eines Salzes, welches aus einem Kation, das aus einem mindestens eine basische Gruppe enthaltenden Peptid stammt, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, gebildet ist, dadurch gekennzeichnet, dass man

60 (a) das Peptid, das mindestens eine basische Aminosäure enthält, in Form der freien Base oder in Form eines Salzes mit einer schwachen Säure und den Polyester mit endständigen Carboxygruppen in einem neutralen polaren Lösungsmittel, in dem beide löslich sind, löst, das Lösungsmittel oder den grössten Teil des Lösungsmittels entfernt und die verbleibende konzentrierte Lösung zu einem Überschuss eines Nichtlösungsmittels für das Peptid-Polyester-Salz zugibt, um das Salz auszufällen, oder

65 (b) das Peptid, das mindestens eine basische Aminosäure enthält, in Form eines Salzes mit einer

- starken Säure mit einem Polyester umsetzt, worin ein Teil oder der gesamte Polyester in Form eines Carbonsäuresalzes mit einem geeigneten Alkali- oder Erdalkalimetall ist.
9. Salz nach Anspruch 1, welches nach dem Verfahren gemäss Anspruch 8 hergestellt worden ist.
10. Pharmazeutische Zusammensetzung, welche ein Salz nach Anspruch 1, das aus einem Kation, das aus einem Peptid stammt, das mindestens eine basische Gruppe enthält, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, gebildet ist, umfasst.
11. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10, welche ausserdem einen pharmazeutischen Hilfsstoff umfasst.
12. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10 oder 11, welche als Lösung oder Dispersion des Salzes in einem Lösungsmittel vorliegt, das ein Lösungsmittel für den freien Polyester, nicht aber ein Lösungsmittel für das freie Peptid ist, wobei die Teilchengrösse des Salzes in der Dispersion geringer als  $5 \mu\text{m}$  ist.
13. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 12, welche einen pharmazeutischen Hilfsstoff enthält.
14. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 12 oder 13, wobei die Teilchengrösse des Salzes in der Dispersion geringer als  $0,2 \mu\text{m}$  ist.
15. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 13 in Form von Mikroteilchen.
16. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10 in Form eines Implantates.
17. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 16, in welcher das Peptid pharmakologisch aktiv ist.
18. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 17, in welcher das Peptid ein Molekulargewicht von mindestens 300 u hat.
19. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 17, in welcher das Peptid ausgewählt ist aus Oxytocin, Vasopressin, adrenocorticotrophem Hormon, Epidermalwachstumsfaktor, Prolactin, luteinisierendem Hormon, Follikel stimulierendem Hormon, Luliberin oder luteinisierendes Hormon freisetzendem Hormon, Insulin, Somatostatin, Glucagon, Interferon, Gastrin, Tetragastrin, Pentagastrin, Urogastron, Secretin, Calcitonin, Enkephalinen, Endorphinen, Kytorphin, Taftsin, Thymopoietin, Thymosin, Thymostimulin, Thymushumoralfaktor, Thymusserumfaktor, Tumornekrosefaktor, Kolonien stimulierenden Faktoren, Motilin, Bombesin, Dinorphin, Neurotensin, Cerulein, Bradykinin, Urokinase, Kallikrein, Analogen und Antagonisten der Substanz P, Angiotensin II, Nervenwachstumsfaktor, Blutgerinnungsfaktoren VII und IX, Lysozymchlorid, Renin, Tyrocidin, Gramacidine, Wachstumshormone, Melanozyten stimulierendem Hormon, Thyroidhormon freisetzendem Hormon, Thyroid stimulierendem Hormon, Parathyroidhormon, Pancreozymin, Cholecystokinin, Humanplacentalactogen, Humanchoriongonadotrophin, die Proteinsynthese stimulierendem Peptid, Hemmpeptid für den Magen, vasoaktivem Intestinalpeptid, Thrombozytenwachstumsfaktor, Wachstumshormon freisetzendem Faktor, knochenmorphogenem Protein und synthetischen Analogen und Modifikationen, und eine entsprechende pharmakologische Aktivität aufweisenden Fragmenten davon.
20. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 19, in welcher das Peptid ein synthetisches Analoges des luteinisierendes Hormon freisetzenden Hormons ist.
21. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 20, in welcher das Peptid ausgewählt ist aus Buserelin, Deslorelin, Fertirelin, Goserelin, Histrelin, Leuprorelin, Lutrelin, Nafarelin, Tryptorelin und Salzen davon.
22. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 21, in welcher das Peptid Goserelin oder ein Salz desselben ist.
23. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 13, in welcher das Peptid pharmakologisch inaktiv ist und welche ausserdem ein pharmakologisch aktives Peptid enthält.
24. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 23, in welcher der als Quelle für das Anion verwendete Polyester mit endständigen Carboxygruppen ausgewählt ist aus Homopolyestern und Copolyestern.
25. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 24, in welcher der Polyester ausgewählt ist aus solchen Polyestern, die sich von Hydroxysäuren ableiten, und solchen, die aus der Polykondensation von Diolen und/oder Polyolen mit Dicarbonsäuren und/oder Polycarbonsäuren stammen.
26. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 25, in welcher der Polyester ein Homo- oder Copolyester ist, der sich von Milchsäure in ihrer D-, L- oder DL-Form und/oder von Glykolsäure ableitet.
27. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 26, in welcher der Polyester ein zahlenmittleres Molekulargewicht von mehr als 2000 u hat.
28. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 26, in welcher der Polyester ausgewählt ist aus
- i) Polyester mit einer Eigenviskosität bei 1% Gewicht/Volumen in Chloroform bei  $25^\circ\text{C}$  im Bereich von 0,08 bis 4,0 dl/g;
  - ii) benzolunlöslichen Polyestern, welche eine normale bis breite Polydispersität, ein Verhältnis Glykolsäure/Milchsäure im Bereich von 60:40 bis 25:75 und eine Eigenviskosität bei 1% Gewicht/Volumen in Chloroform bei  $25^\circ\text{C}$  im Bereich von 0,08 bis 4,0 dl/g haben;

- iii) benzollöslichen Polyestern, welche eine enge bis breite Polydispersität, ein Verhältnis Glykolsäure/Milchsäure im Bereich von 35:65 bis 10:90 und eine Eigenviskosität bei 1% Gewicht/Volumen in Chloroform bei 25°C im Bereich von 0,08 bis 0,5 dl/g haben;
- 5 iv) benzollöslichen Polyestern, welche eine enge bis breite Polydispersität, ein Verhältnis Glykolsäure/Milchsäure im Bereich von 35:65 bis 0:100 und eine Eigenviskosität bei 1% Gewicht/Volumen in Chloroform bei 25°C im Bereich von 0,08 bis 0,8 dl/g haben und
- v) benzollöslichen Polyestern, welche eine normale bis hohe Polydispersität, ein Verhältnis Glykolsäure/Milchsäure im Bereich von 25:75 bis 0:100 und eine Eigenviskosität bei 1% Gewicht/Volumen in Chloroform bei 25°C im Bereich von 0,2 bis 4,0 dl/g haben.
- 10 29. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 15 und 17 bis 28, welche als Lösung vorliegt und in welcher der Polyester auf Homo- oder Copolymeren von Milch- und Glykolsäure basiert und der pharmazeutisch annehmbare Hilfsstoff ein organisches Lösungsmittel ist, das ausgewählt ist aus Benzylbenzoat, Benzylalkohol, Ethyllactat, Glyceryltriacetat, Estern von Zitronensäure und Polyethylenglykolen mit niedrigem Molekulargewicht < 1.000), Alkoxyethylenglykolen und Polyethylenglykolacetaten.
- 15 30. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 10 bis 15 und 17 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung in Form von Mikroteilchen mit einem Durchmesser im Bereich von 0,2 µm bis 500 µm, suspendiert in einem pharmazeutisch annehmbaren Injektionsträger, vorliegt.
- 20 31. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10, in einer zur Verabreichung an einen Patienten geeigneten Form und welche ein Salz umfasst, welches aus einem Kation, das aus einem mindestens eine basische Gruppe enthaltenden Peptid stammt, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, gebildet ist.
- 25 32. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 31, welche ausserdem einen pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff umfasst.
33. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 31 oder 32 in einer zur Injektion oder zur subdermalen Implantation geeigneten Form, welche ausgewählt ist aus:
- 30 i) einer Lösung oder Dispersion des Salzes in einem Lösungsmittel, das ein Lösungsmittel für den freien Polyester, nicht aber ein Lösungsmittel für das freie Peptid ist, wobei die Teilchengrösse des Salzes in der Dispersion geringer als 5 µm ist,
- ii) Mikropartikeln, und
- iii) einem Implantat.
34. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10 in einer zur oralen Verabreichung geeigneten Form.
- 35 35. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 11 bis 30 und 32, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Salz, welches aus einem Kation, das aus einem mindestens eine basische Gruppe enthaltenden Peptid stammt, und einem Anion, das von einem Polyester mit endständigen Carboxygruppen stammt, gebildet ist, und einen pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoff zusammenbringt.
- 40 36. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach Anspruch 11 oder 13 in Form einer Lösung, dadurch gekennzeichnet, dass man eine innige Mischung des Peptides und des Polyesters in einem pharmazeutisch annehmbaren Lösungsmittel löst.

45

50

55

60

65