CSA045402

Digitalización CSA Ltda

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCIÓN

21. **EXPEDIENTE No.** 09-63558

54. **TÍTULO** COMPOSICIONES DE LIBERACION SOSTENIDA Y METODO PARA PRODUCIRLA

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL**

71. **SOLICITANTE** TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

DOMICILIO OSAKA, JAPON

74. **APODERADO** EMILIO FERRERO
C.C. 438.019 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D. C.,**

(FORMA P-10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-063558- -00000-0000
Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)

Nombre: **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**
Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Japón.

Dirección: 1-1, Doshomachi 4-chome,
Chuo-ku,
Osaka-shi,
Osaka 541-0045,
Japón

Domicilio: Osaka,
Japón

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual ____
Número ____

3 REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: EMILIO FERRERO
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual ____
Número 438.019 T.P 31.929

4 INVENTOR (ES) (72)

1. Tomomichi FUTO
c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
17-85-Jusohonmachi 2-chome,
Yodogawa-ku,
Osaka-shi,
Osaka 532-8686,
Japón

2. Kazuhiro SAITO
c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
17-85-Jusohonmachi 2-chome,
Yodogawa-ku,
Osaka-shi,
Osaka 532-8686,
Japón

3. Tetsuo HOSHINO
c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
17-85-Jusohonmachi 2-chome,
Yodogawa-ku,
Osaka-shi,
Osaka 532-8686,
Japón

4. Masuhisa HORI
c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
17-85-Jusohonmachi 2-chome,
Yodogawa-ku,
Osaka-shi,
Osaka 532-8686,
Japón

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/JP2007/074617 Fecha: 17 de diciembre de 2007
Publicación Internacional No. WO 2008/075762 A1 Fecha: 26 de junio de 2008

6 Título (54)

COMPOSICIÓN DE LIBERACIÓN SOSTENIDA Y MÉTODO PARA PRODUCIRLA

7 Clasificación Internacional (51) A61K 009/016

8 Prioridad SI☒ NO☐	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	US US	18 de diciembre de 2006 11 de mayo de 2007	60/875,364 60/917,401

9

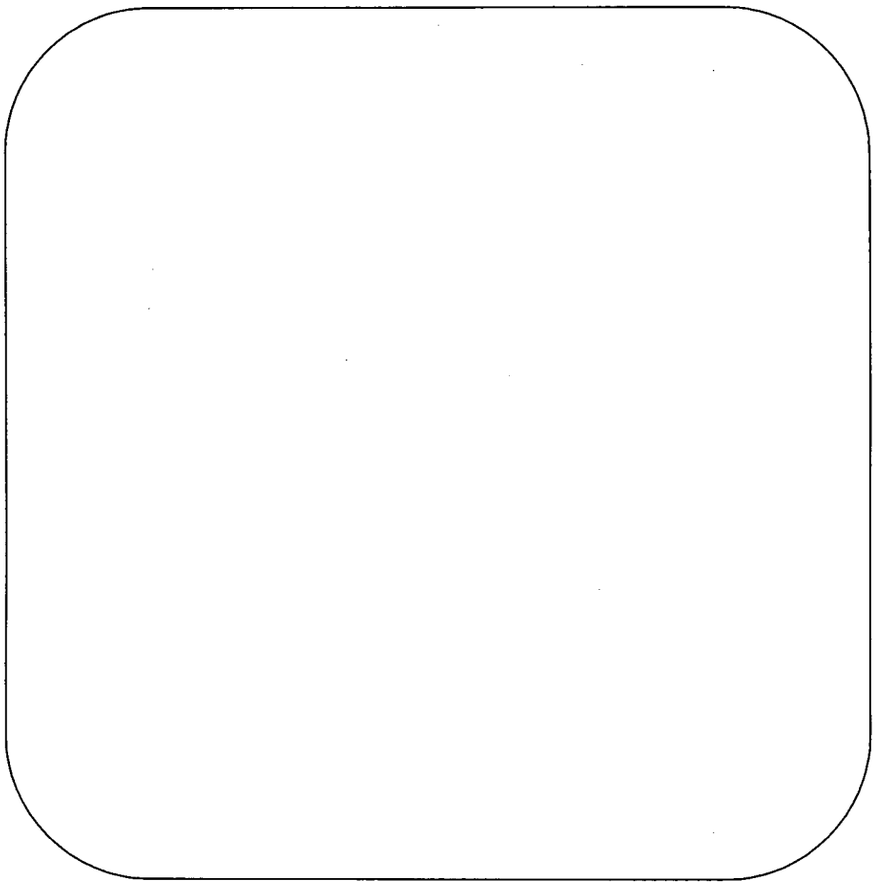
Comprobante de pago No.: 09-39,959 **Fecha:** 1 de junio de 2009
Comprobante de pago No.: 09-42,036 **Fecha:** 8 de junio de 2009
Comprobante de pago No.: 09-42,037 **Fecha:** 8 de junio de 2009
Comprobante de pago No.: 09-42,058 **Fecha:** 8 de junio de 2009
Comprobante de pago No.: 09-42,059 **Fecha:** 8 de junio de 2009

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por $ 540.000.oo.
- ☒ Comprobante de pago por 57 reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por $1.425.000.oo.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11 **FIGURA CARACTERÍSTICA**



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA : _____

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/075762 A1

   Descripción:

   Páginas 122 en el idioma original

   Páginas 118 en español

   Reivindicaciones: Número (s) 72

   Figuras: Número (s) 9

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE INTERNACIONAL

5

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTA, D.C. - COLOMBIA

179

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of- Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- OF- ATTORNEY

Fe

C

14656
0 8085

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned
TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
domiciliado (s) en/of 1-1, Doshomachi 4-chome,
Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka Japan

Por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obedecimiento a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) (industrial property and against the unfair competition, and to this end I (we) authorize the said attorneys to appear before any persons or authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetable species and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit

NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.
HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
08 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

© CAVELIER ABOGADOS

promueven. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir, este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 14th day of December, 2004

en/in Osaka, Japan

por/by

Firma Hiroshi Akimoto Ph. D. Signature
Executive Director
Member of the Board, General Manager,
Intellectual Property Dept.
Authorized Signing Officer

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

© CAVELIER ABOGADOS

REGISTER NUMBER 334 / 2004

I hereby certify that this document was signed before me and that the signature appearing on the same is the true signature of Hiroshi Akimoto, Ph. D., Executive Director, Member of the Board, General Manager, Intellectual Property Department of Takeda Pharmaceutical Company Limited.

Dated this 14th day of December, 2004

10-8, Edobori 1-chome,
Nishi-ku, Osaka, Japan.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Kiyoomi Fujita

Kiyoomi Fujita
Notary attached
to The Osaka Legal
Affairs Bureau

8

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

1. Country: **JAPAN**

   This public document

2. has been signed by — Kiyoomi FUJITA
3. acting in the capacity of — Notary Public of the Osaka Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of — Kiyoomi FUJITA, Notary Public

Certified

5. at **Osaka**
6. DEC. 17. 2004
7. by **the Ministry of Foreign Affairs**
8. No. 04149
9. Seal/stamp:
10. Signature:

Tsutomu HIGUCHI

For the Minister for Foreign Affairs

9

大阪法務局所属　公証人役場

認証登簿　平成１６年 第　334　号

嘱託人 武田薬品工業株式会社 常務取締役　知的財産部長 秋元浩は、本職の面前でこの証書に署名した。

よって、その署名が本人の自筆であることを証する。

平成　16　年　12　月　14　日

大阪市西区江戸堀1丁目10番8号（帝人殖産ビル内）

公証人　**藤田清臣**　役場において

大阪法務局所属

公証人　藤田清臣

CONSUL NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

10

THE OSAKA CHAMBER OF COMMERCE & INDUSTRY

2-8 HOMMACHIBASHI, CHUO-KU, OSAKA 540-0029, JAPAN.
FAX : (06)6944-6248 TEL : (06)6944-~~5412~~ 6411
URL : http://www.osaka.cci.or.jp/

November 17, 2004

To whom it may concern:

CERTIFICATE OF MEMBERSHIP

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTÁ D.C. REPÚBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

This is to certify that the undermentioned company is registered as a member of this Chamber.

Company name: Takeda Pharmaceutical Company Limited

(The former company name in English was Takeda Chemical Industries, Ltd. until June 29, 2004.)

Address: 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka, Japan

Membership Number: KT-01-00080

The Osaka Chamber of Commerce & Industry

Yoshinobu Kobayashi
Authorized Signatory

A [illegible]149

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

EMBAJADA DE COLOMBIA - SECCION CONSULAR

Tokio, Japón, DICIEMBRE 20, 2004
No. 299

El encargado de las funciones consulares de Colombia
CERTIFICA:

Que el (la) Señor(a) YOSHINOBU KOBAYASHI, quien autoriza el presente documento , es la persona legalmente facultada para representar en la fecha señalada al (a la) CAMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA, OSAKA y que la firma y sello que en el documento aparecen como suyos son las que usa y acostumbra para sus actos oficiales.

El Encargado de Funciones Consulares no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.

Firma del Encargado de Funciones Consulares)

Derechos: US$23.oo

RAFAEL RICARDO OROZCO
Segundo Secretario

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 FEB -4 A 2:33

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

J. DE RELACIONES EXTERIORES

085749

ESTA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

11

総第 3603 号

証　　明

大阪法務局所属公証人　藤田清臣

平成 16年12 月14 日付

平成16年 登簿 第 334 号

この認証の付与は，在職中の公証人がその権限に基づいてしたものであり，かつ，その押印は，真実のものであることを証明する。

平成16年12月17日
平成　　年　　月　　日

大阪法務局長　梅津和宏

CERTIFICATE

This is to certify that the annexed Notarial Certificate has been executed by Notary,duly authorized and practising in Osaka, Japan, and that the Official seal appearing on the same is genuine.

Date 04.12.17

Director of the Osaka Legal Affairs Bureau

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C. DAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTÁ D.C. REPÚBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

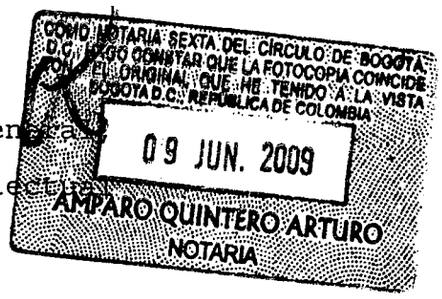
TRADUCCIÓN OFICIAL No. 02.04/05b realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento por medio del cual **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMIMTED** domiciliado en el 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka, Japón, otorga derechos de Representación y Poder a los Doctores EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa. 23555; y GERMÁN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el 14 de diciembre de 2004 en Osaka, Japón.

Firma Ilegible

Firma Hiroshi Akimoto Ph. D.
Director Ejecutivo
Miembro de la Junta, Gerente General
Departamento de Propiedad Intelectual
Signatario Autorizado



REGISTRO NÚMERO **334** / 2004

Por el presente certifico que este documento fue firmado ante mí y que la firma que aparece en el mismo es la firma auténtica de Hiroshi Akimoto, Ph. D., Director Ejecutivo, Miembro de la Junta, Gerente General, Departamento de Propiedad Intelectual de Takeda Pharmaceutical Company Limited.

Expedido hoy 14 de diciembre de 2004

10-8, Edobori 1-chome

Nishi-ku, Osaka, Japón

Firma ilegible

Kiyoomi Fujita
Notario adjunto a la
Oficina de Asuntos Legales de Osaka

DOCUMENTO ANTERIOR EN JAPONÉS

(Anexo)

Texto en Japonés

CERTIFICADO

El presente es para certificar que el Certificado Notarial anexo ha sido suscrito por un notario debidamente autorizado y en ejercicio en Osaka, Japón, y que el sello oficial que aparece en el mismo es auténtico.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTÁ D.C., REPÚBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Fecha: 04.12.17

Director de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octubre 1961)

1. País: **JAPÓN**

   Este documento público

2. ha sido firmado por — Kiyoomi FUJITA

3. actuando en calidad de — Director de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio

4. lleva el sello/estampilla de — Kiyoomi FUJITA, Notario Público

La Cámara de Comercio e Industria de Osaka

Firma Ilegible

Yoshinobu Kobayashi

Signatario Autorizado

(Respaldo)

Certificado No. 299 del 20 de diciembre de 2004 expedido por la EMBAJADA DE COLOMBIA en Tokio, Japón, en donde se certifica que YOSHINOBU KOBAYASHI está legalmente facultado para firmar a nombre de la Cámara de Comercio e Industria de Osaka y que su firma en el anterior documento es auténtica.

Firmado por RAFAEL RICARDO OROZCO, Segundo Secretario.

Pagados los derechos consulares.

Legalización de la firma anterior con el **No. 085749** expedida por el Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Santafe de Bogotá el 4 de

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Es traducción fiel y completa de la misma se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6472/WPCL002G/COLO 14656-845-001-0

DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES – INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) [illegible]

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA

SANTAFE DE BOGOTA, 08 FEB 2005

CODEX JURISOMNIUS

REPUBLICA DE COLOMBIA
Notario Sexto
SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 FEB -8 P 2:40

JEFE DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

313395

CUAL FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPÚBLICA DE COLOMBIA

09 JUN. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

15

Certificado

5. en **Osaka** 6. DIC 17 DE 2004

7. por el **Ministerio de Relaciones Exteriores**

8. **No. 04149**

DIEGO F. VARGAS
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES – INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

9. **Sello/estampilla** 10. **Firma:**

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
JAPÓN

Firma Ilegible

Tsutomu HIGUCHI

Por el Ministro de Relaciones Exteriores

LA CÁMARA DE COMERCIO E INDUSTRIA DE OSAKA
2-8 HOMMACHIBASHI, CHUO-KU, OSAKA 540-0029, JAPÓN
FAX: (06) 6944-6248 TEL: 6944-~~5412~~ 6411
URL: http://www.osaka.cci.or.jp/

Noviembre 17 de 2004

A quién pueda interesar:

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
09 JUN. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

CERTIFICADO DE MEMBRESÍA

El presente es para certificar que la siguiente compañía está registrada como miembro de esta Cámara.

Nombre de la compañía: Takeda Pharmaceutical Company Limited

(El nombre anterior de la compañía en inglés fue Takeda Chemical Industries, Ltd. hasta el 29 de junio de 2004.)

Dirección: 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka, Japón

Número de Membresía: KT-01-00080

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 08FEB2005

CODEX JURIS CIVILIS

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA

09 JUN. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

313391

DIEGO VARGAS
ESTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

FEB -8 P 2:39

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

...SKI
...N° 72-35
...COLOMBIA

CESION

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

domiciliado(s) en

declaro(amos) bajo juramento ser único(s) y verdadero(s) inventor(es) de la invención:

declaro(amos) así mismo que cedo(emos) y transfiero(erimos), sin limitación, a favor de la sociedad

constituida y existente de conformidad con las leyes de

domiciliada en

todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada compañía queda facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en la República de Colombia.

ASSIGNMENT

I (we), the undersigned

Tomomichi FUTO, Kazuhiro SAITO, Tetsuo HOSHINO and Masuhisa HORI

of c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED, 17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka 532-8686 Japan (all inventors), respectively

state(s) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

SUSTAINED-RELEASE COMPOSITION AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of

TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

a corporation constituted and existing in conformity with the laws of

Japan

domiciled in

1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-0045 Japan

all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent invention, in the Republic of Colombia

Dado y firmado hoy/ Given and signed this

18th day of May, 2009

en/in Osaka, Japan

Firma

Tomomichi Futo
Tomomichi FUTO

Kazuhiro Saito
Kazuhiro SAITO

Tetsuo Hoshino
Tetsuo HOSHINO

Masuhisa Hori
Masuhisa HORI

Signature

© CAVELIER ABOGADOS

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: **JAPAN**

   This public document

2. has been signed by — Masaharu KEMMA

3. acting in the capacity of — Notary Public of the Osaka Legal Affairs Bureau

4. bears the seal/stamp of — Masaharu KEMMA, Notary Public

Certified

5. at **Osaka**

6. MAY. 18. 2009

7. by **the Ministry of Foreign Affairs**

8. No. 2700

9. Seal/stamp:

10. Signature:

Noriko KAWAHITO

For the Minister for Foreign Affairs

2807

大阪法務局所属　公証人役場

認証登簿　平成２１年第　206　号

嘱託人　布藤　智康、齋藤　和宏、星野　哲夫　および　堀　益久は、本職の面前でこの証書に署名した。

よって、その署名が本人の自筆であることを証する。

平成　２１　年　５　月　１８　日

大阪市西区江戸堀１丁目１０番８号

公証人　見　満　正　治　役場において

大阪法務局所属

公証人　見満正治

18

REGISTER NUMBER 206 / 2009

I hereby certify that this document was signed before me and that the signatures appearing on the same are the true signatures of Messrs. Tomomichi FUTO, Kazuhiro SAITO, Tetsuo HOSHINO and Masuhisa HORI.

Dated this 18th day of May, 2009

10-8, Edobori 1-chome,

Nishi-ku, Osaka, Japan.

Masaharu Kemma

Masaharu KEMMA

Notary attached

to The Osaka Legal Affairs Bureau

総 第 2099 号

証 明

大阪法務局所属公証人 **見 満 正 治**

平成21年5月18日付

平成21年 登簿 第 206 号

この認証の付与は，在職中の公証人がその権限に基づいてしたものであり，かつ，その押印は，真実のものであることを証明する。

平成21年5月18日
平成 年 月 日

大阪法務局長 白 石 研 二

CERTIFICATE

This is to certify that the annexed Notarial Certificate has been executed by Notary, duly authorized and practising in Osaka, Japan, and that the Official Seal appearing on the same is genuine.

Date MAY 18. 2009

Director of the Osaka Legal Affairs Bureau

TRADUCCIÓN OFICIAL 157/2009 DE UN DOCUMENTO EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL, REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA, TRADUCTOR OFICIAL AUTORIZADO POR RESOLUCIÓN 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976 POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE COLOMBIA. DE ACUERDO CON DICHO DOCUMENTO 1) **TOMOMICHI FUTO, KAZUHIRO SAITO, TETSUO HOSHINO Y MASUHISA HORI**, TODOS DOMICILIADOS EN C/O TAKEDA PHARMACEUTICA COMPANY LIMITED. 17-85, JUSOHONMACHI 2-CHOME, YODOGAWA-KU, OSAKA-SHI, OSAKA 532-8686, JAPON DECLARAN BAJO JURAMENTO SER LOS INVENTORES ÚNICOS Y VERDADEROS DE LA INVENCIÓN **COMPUESTO DE LIBERACION SOSTENIDA Y METODO PARA PRODUCIR EL MISMO**. ADEMÁS QUE CEDEN SIN RESERVAS NI LIMITACIONES EN FAVOR DE **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**, UNA SOCIEDAD CONSTITUIDA Y EXISTENTE DE CONFORMIDAD CON LAS LEYES DE JAPON, DOMICILIADA EN 1-1, DOSHOMACHI 4-CHOME, CHUO-KU, OSAKA-SHI, OSAKA, 541-0045, JAPÓN, TODOS LOS DERECHOS INHERENTES A DICHA INVENCIÓN Y QUE LA CITADA COMPAÑÍA QUEDA FACULTADA PARA SOLICITAR EN SU NOMBRE LA PATENTE CORRESPONDIENTE EN LA REPÚBLICA DE COLOMBIA. DADO Y FIRMADO HOY 18 DE MAYO DE 2009 EN OSAKA, JAPON.

A CONTINUACION APARECEN LAS FIRMAS DE LOS CUATRO INVENTORES ARRIBA MENCIONADOS.

REGISTRO NUMERO 206/2009

Por el presente certifico que este documento fue firmado ante mi y que las firmas que aparecen en el mismo son las firmas

Eduardo Calado N.

Eduardo Calado Noguera
TRADUCTOR OFICIAL
Inglés - Español - Inglés
Res. 541 Febrero de 1976

veridicas de los señores (a continuacion aparecen los nombres de los cuatro inventores arriba mencionados)

Fechado hoy 18 de mayo de 2009

10-8, Edobori 1-chome, Nishi-ku, Osaka, Japón

FIRMA ILEGIBLE

MASAHARU KEMMA, NOTARIO ADJUNTO A LA OFICINA DE ASUNTOS JURIDICOS DE OSAKA.

CERTIFICACIÓN

Por la presente certifico que la certificación notarial adjunta ha sido firmada por un notario público debidamente autorizado y practicante en OSAKA, JAPÓN, y que el sello oficial que aparece en la misma es genuino.

FECHA: 18 DE MAYO DE 2009

DIRECTOR DE LA OFICINA DE ASUNTOS JURIDICOS DE OSAKA

APOSTILLA

(CONVENCIÓN DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961)

1. PAÍS: JAPÓN

Este documento público

2. ha sido firmado por MASAHARU KEMMA

3. quien actúa en su calidad de NOTARIO DE LA OFICINA DE ASUNTOS JURÍDICOS DE OSAKA

4. lleva el sello/estampilla DE MASAHARU KEMMA, NOTARIO PÚBLICO

CERTIFICADO

5. en OSAKA 6. el 18 de mayo de 2009.

7. por el Ministerio de Asuntos Exteriores

Eduardo Calado N.

Eduardo Calado Noguera
TRADUCTOR OFICIAL
Inglés - Español - Inglés
Res. 541 Febrero de 1976

8. No. 2700

9. Sello/estampilla: MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES, JAPÓN

10. Firma: NORIKO KAWAHITO, a nombre del Ministro de Relaciones Exteriores

COLO-14656-841-050-1

ECN\ECN\ID-151982\WPCL002G

Bogotá, 11 de junio de 2009.

Eduardo Calado N.

Eduardo Calado Noguera
TRADUCTOR OFICIAL
Inglés - Español - Inglés
Res. 541 Febrero de 1976

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

PCT

(43) International Publication Date
26 June 2008 (26.06.2008)

(10) International Publication Number
WO 2008/075762 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 9/16 (2006.01) *A61K 31/55* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/JP2007/074617

(22) International Filing Date:
17 December 2007 (17.12.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/875,364 18 December 2006 (18.12.2006) US
60/917,401 11 May 2007 (11.05.2007) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED** [JP/JP]; 1-1, Doshomachi 4-Chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka, 5410045 (JP).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **FUTO, Tomomichi** [JP/JP]; c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED, 17-85,Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, 5328686 (JP). **SAITO, Kazuhiro** [JP/JP]; c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED, 17-85,Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, 5328686 (JP). **HOSHINO, Tetsuo** [JP/JP]; c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED, 17-85,Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, 5328686 (JP). **HORI, Masuhisa** [JP/JP]; c/o TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED, 17-85,Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka, 5328686 (JP).

(74) Agents: **TANAKA, Mitsuo** et al.; AOYAMA & PARTNERS, IMP Building, 3-7, Shiromi 1-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka, 5400001 (JP).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

(54) Title: SUSTAINED-RELEASE COMPOSITION AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

(57) Abstract: Sustained-release compositions wherein a water-soluble physiologically active peptide is substantially uniformly dispersed in a microcapsule comprised of a lactic acid polymer or a salt thereof, and the physiologically active substance is contained in an amount of 15 to 35 wt/wt% to the total microcapsules and weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,000 to about 27,000, which is characterized by having a high content of the physiologically active substance, and suppression of the initial excessive release within one day after the administration and a stable drug sustained-release over a long period of time, and method for producing the same.

WO 2008/075762 A1

DESCRIPTION

SUSTAINED-RELEASE COMPOSITION AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

Technical Field

The present invention relates to a sustained-release preparation of a physiologically active substance, a method for producing the same, and a use as a medicament and the like.

Background Art

As a conventional art, for example, Japanese Patent No. 3116311 discloses a microspherical sustained-release preparation comprised of a water-soluble drug such as a physiologically active peptide and a polylactic acid, and as a method for producing the same, there is described a method which comprises dissolving a water-soluble drug such as a physiologically active peptide and a biodegradable polymer in a mixed solvent of a water-immiscible solvent such as dichloromethane and a water-miscible solvent such as ethanol, and adding the solution into water etc. to produce an O/W emulsion, followed by subjecting to an in-water drying method to prepare a sustained-release microcapsule. In addition, Japanese Patent No. 3512408 discloses microspherical microparticles comprising of a

water-soluble physiologically active peptide and a polylactic acid or a copolymer of lactic acid and glycolic acid, wherein the release dynamic of the drug is controlled, and as a method for preparing the microparticle, there is described a method which comprises dissolving a polymer in a volatile and water-immiscible solvent, mixing a solution separately prepared by dissolving a water-soluble physiologically active peptide in water-miscible solvent with the above polymer solution, and emulsifying the resulting solution in an aqueous phase containing an emulsifier, followed by removing the solvent from the obtained O/W emulsion to prepare the microspherical microparticles. However, the drug content in each of the sustained-release preparations is about 10% or about 0.1 to 5%, and a sustained-release preparation capable of sustainably releasing the drug over about two months is not described.

Furthermore, Pharmaceutical Research, Vol. 19, No. 4 (April, 2002) discloses a microspherical sustained-release preparation comprised of leuprolide acetate and polylactic acid, and as a process for preparing the preparation, there is described a method which comprises mixing a methanol solution of leuprolide and a dichloromethane solution of polylactic acid, and dispersing the solution in an aqueous solution of polyvinylalcohol, followed by removing the

organic solvent to prepare the microspherical sustained-release preparation. The preparation has a characteristic of releasing the drug over a period of 180 to 240 days. However, the drug release is small in amount at the first or second month from the early period of administration after initial burst, and the preparation exhibits a typical triphasic drug release.

Disclosure of Invention

The present invention is intended to provide a novel composition containing a physiologically active substance in high content and capable of achieving a stable releasing rate over a long period of time by suppressing the initial excessive release within one day after the administration and obtaining a stable drug release in the onset part over one day to about one month after the administration, and a method for producing the same.

Also, the present invention is intended to provide a sustained-release preparation which stabilizes blood drug concentration for a long period by the above-described stable drug release over a long period of time.

Furthermore, the present invention is intended to provide a sustained-release preparation in which the volume or weight of the whole sustained-release preparation required for per unit dose of the active ingredient is

reduced by increasing a content of a physiologically active substance in the preparation to an elevated amount, that is, increasing the content of the physiologically active substance per unit volume of the sustained-release preparation.

Moreover, the present invention is intended to provide a sustained-release preparation in which a physical burden of patients supposed to be caused by administering a preparation having a bulky unit volume such as pain at the time of administration and induration after the administration is reduced by the preparation having an elevated drug content mentioned above.

In addition, the present invention can achieve at the same time the conflicting objects of a reduction of a physical burden at the time of administration and a reduction of ambulatory burden by decreasing administration frequency with the above-described preparation in which both a stable sustained release over a long period of time and an elevation of drug content are achieved at the same time.

The present inventors have intensively investigated in view of the above-mentioned circumstances, and as a result, have found that a sustained-release preparation comprised of a specific combination or a specific composition and obtained by a specific process for preparation keeps the

initial excessive release within one day after the administration at extremely low level and exhibits ideal drug-release characteristic features in the onset part from one day to about one month after administration to a patient, and by using the present sustained-release preparation, an extremely stable blood drug level transition can be achieved over a long period of time due to the inhibition of the initial excessive release within one day after the administration and long-term stable release rate by ideal release dynamics in the onset part in addition to unexpectedly, being able to incorporate a physiologically active substance at a high content.

As a result of a further study based on these knowledge, the inventors have completed the present invention.

That is, the present invention provides:

(1) A sustained-release composition in which a physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide is substantially uniformly dispersed in a microcapsule comprised of a lactic acid polymer or a salt thereof, wherein said physiologically active substance is contained in an amount of 15 to 35 (weight/weight)% to the total microcapsules and weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,000 to about 27,000;

(2) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is any one selected from:

(i) about 11,600 to about 20,000 and

(ii) about 19,000 to about 27,000;

(3) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which comprises maintaining an effective drug blood level over a period of about 60 days to 130 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition;

(4) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which comprises maintaining an effective drug blood level over a period of about 120 days to 400 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition;

(5) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the physiologically active substance is a LH-RH derivative;

(6) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the physiologically active

substance is a peptide of formula:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

wherein, Y represents DLeu, DAla, DTrp, DSer (tBu), D2Nal or DHis (ImBzl) and Z represents $NH-C_2H_5$ or $Gly-NH_2$, or a salt thereof;

(7) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the physiologically active substance is a peptide of formula:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-$NH-C_2H_5$,

or an acetate thereof;

(8) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules;

(9) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1) which is obtained by dissolving the lactic acid polymer or the salt thereof in a volatile water-immiscible first solvent to prepare a first solution, dissolving the physiologically active substance comprised of the water-soluble physiologically active peptide in a water-miscible second solvent to prepare a second solution, mixing the resultant first solution and the resultant second solution to prepare a third solution in which the lactic acid polymer or the salt thereof and the physiologically active substance are uniformly dissolved,

dispersing the resultant third solution in a fourth solution comprised of an aqueous solution of an emulsifier to prepare an O/W emulsion, and

removing the first solvent and the second solvent from the generated microcapsule;

(10) The sustained-release composition according the above-mentioned (9), which is characterized in that a mixed solvent in which a water-miscible third solvent is further added to the first solvent is used as a solvent for dissolving the lactic acid polymer or the salt thereof in the preparation of the first solution;

(11) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that a controlled temperature of the emulsifying step is adjusted to about 15 to about 35°C in the step of removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule;

(12) The sustained-release composition according the above-mentioned (11), which is characterized in that the temperature control of the emulsifying step is performed by adjusting the temperature of the O/W emulsion to about 15 to 35°C;

(13) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), wherein the respective temperatures of the third solution and the fourth solution in the preparation of the O/W emulsion are about 15 to

about 35°C;

(14) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that the step of removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule is performed by an in-water drying method;

(15) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), wherein the first solvent is dichloromethane;

(16) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), wherein the second solvent and/or the third solvent is a lower alcohol;

(17) The sustained-release composition according to the above-mentioned (16), wherein the lower alcohol is methanol, ethanol, or propanol;

(18) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that a volume ratio of the water-immiscible solvent and the water-miscible solvent in the third solution is 35:65 to 55:45;

(19) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that a polymer concentration in the first solution is about 33 to 45% by weight;

(20) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that a

loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 17 to 50% by weight;

(21) The sustained-release composition according to the above-mentioned (9), which is characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules;

(22) The sustained-release composition according to the above-mentioned (21), which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 19 to 38% by weight;

(23) The sustained-release composition according to the above-mentioned (21), which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 20 to 23% by weight;

(24) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized in that the sustained-release composition further contains a fatty acid;

(25) The sustained-release composition according to the above-mentioned (24), wherein the fatty acid is at least one selected from stearic acid, benzoic acid, hydroxynaphthoic acid, and pamoic acid;

(26) The sustained-release composition according to the above-mentioned (24), which is characterized in that a ratio of the fatty acid to the total microcapsules is about 0.01 to about 50% by weight;

(27) The sustained-release composition according to the above-mentioned (24), which is characterized in that an amount of the fatty acid to be added is 0.1 to 10 moles relative to one mole of the water-soluble physiologically active peptide or the salt thereof;

(28) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized by being easily-dispersible in a disperse medium;

(29) The sustained-release composition according to the above-mentioned (28), which is characterized by being stable for 24 hours or more after dispersion in the disperse medium;

(30) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.9;

(31) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii)

about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.5;

(32) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized in that the lactic acid polymer is polylactic acid or polylactide;

(33) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized in that the lactic acid polymer is poly-DL-lactic acid or poly-DL-lactide;

(34) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), which is characterized in that the lactic acid polymer is a lactic acid-glycolic acid polymer;

(35) The sustained-release composition according to the above-mentioned (34), which is characterized in that a composition ratio of lactic acid/glycolic acid in the lactic acid-glycolic acid polymer is 60/40 to 99.9/0.1;

(36) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of 5,000 or less whose content is about 5.0% by weight or less;

(37) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of

3,000 or less whose content is about 1.5% by weight or less;

(38) The sustained-release composition according to the above-mentioned (1), wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of 1,000 or less whose content is about 0.1% by weight or less;

(39) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 12,000 to 19,000;

(40) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 13,000 to 18,000;

(41) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 19,500 to 26,500;

(42) A process for preparation of a sustained-release composition of a microcapsule containing a physiologically active substance at 15 to 35% by weight to the whole microcapsules, comprising steps of:

(i) dissolving a lactic acid polymer or a salt thereof in a volatile water-immiscible first solvent to prepare a first solution,

(ii) dissolving the physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide in a water-miscible second solvent to prepare a second solution,

(iii) mixing the resultant first solution and the resultant second solution to prepare a third solution in which the lactic acid polymer or the salt thereof and the physiologically active substance are uniformly dissolved,

(iv) dispersing the resultant third solution in a fourth solution comprised of an aqueous solution of a surfactant to prepare an O/W emulsion, and

(v) removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule by an in-water drying method at a controlled temperature of about 15 to about 35°C;

(43) The process according to the above-mentioned (42), wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,600 to about 20,000;

(44) The process according to the above-mentioned

(42), wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 19,000 to about 27,000;

(45) The process according to the above-mentioned (42), which is characterized in that a mixed solvent in which a water-miscible third solvent is further added to the first solvent is used as a solvent for dissolving the lactic acid polymer or the salt thereof in the step (i);

(46) The process according to the above-mentioned (42), which is characterized in that the respective temperatures of the third solution and the fourth solution in the preparation of the O/W emulsion are adjusted to about 15 to about 35°C;

(47) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized in that a fatty acid or a salt thereof is further added to the first solution and/or the second solution or the third solution;

(48) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized in that a fatty acid or a salt thereof is dissolved in the second solution;

(49) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the

third solution is 17 to 50% by weight;

(50) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules;

(51) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (50), which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 19 to 38% by weight;

(52) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (50), which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 20 to 23% by weight;

(53) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized by maintaining an effective drug blood level over a period of about 60 days to 130 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition;

(54) The process for the preparation of a sustained-release composition according to the above-mentioned (42), which is characterized by maintaining an effective drug

that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 3% to 30% of the whole AUC;

(58) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration calculated from the blood concentration is 40% to 80% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile;

(59) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from one month to three months after the administration is 10% to 35% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile;

(60) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in

blood level over a period of about 120 days to 400 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition;

(55) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration is 2 to 50;

(56) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from one month to three months after the administration is 20 to 350;

(57) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in

that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration is 10 to 90;

(61) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that a ratio of a blood maximum concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from one month to six months after the administration is 20 to 500;

(62) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 1% to 20% of the whole AUC;

(63) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii)

about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration calculated from the blood concentration is 10% to 50% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile;

(64) The sustained-release composition according to the above-mentioned (2) in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from one month to six months after the administration is 40% to 90% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile;

(65) A pharmaceutical composition comprising the sustained-release composition according to the above-mentioned (1);

(66) A prophylactic or therapeutic agent for prostate cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea, or breast cancer, or a contraceptive agent, comprising the sustained-release composition according to the above-mentioned (1);

(67) A prophylactic agent for premenopausal breast cancer postoperative recurrence, comprising the sustained-

release composition according to the above-mentioned (1);

(68) A method for preventing or treating prostate cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea, or breast cancer, or a method of contraception, comprising administering an effective amount of the sustained-release composition according to the above-mentioned (1)to a mammal;

(69) A method for preventing premenopausal breast cancer postoperative recurrence, comprising administering an effective amount of the sustained-release composition according to the above-mentioned (1) to a mammal;

(70) The method according to the above-mentioned (68) or (69), characterized in that the sustained-release composition is prepared by the method according to any one of the above-mentioned (42) to (54);

(71) Use of the sustained-release composition according to the above-mentioned (1) for the manufacture of a prophylactic or therapeutic agent for prostate cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea or breast cancer, or a contraceptive agent;

(72) Use of the sustained-release composition according to the above-mentioned (1) for the manufacture of a prophylactic agent for premenopausal breast cancer

postoperative recurrence; and the like.

Brief Description of Drawings

Fig. 1 is a graph showing each transition of blood drug level when the microcapsule powder prepared in Example 1 and Comparative Example 1 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows time, and the numerical value of the longitudinal axis shows a blood concentration.

Fig. 2 is a graph showing each transition of blood drug level when the microcapsule powder prepared in Examples 1, 2, 3, and 4 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows time, and the numerical value of the longitudinal axis shows a blood concentration.

Fig. 3 is a graph showing Cmax calculated from each blood drug level transition when the microcapsule powder prepared in Example 1, Example 2, Example 3, Example 4, Example 5 and Example 6 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows the temperature at an emulsification, and the numerical value of the longitudinal axis shows Cmax.

Fig. 4 is a graph showing area under the blood concentration-time curve (AUC) for 24 hours after the administration calculated from each blood drug level

transition when the microcapsule powder prepared in Examples 1, 2, 3, 4, 5, and 6 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows the temperature at an emulsification, and the numerical value of the longitudinal axis shows AUC.

Fig. 5 is a graph showing AUC for a period from 4th weeks to 13th weeks after the administration calculated from each blood drug level transition when the microcapsule powder prepared in Examples 1, 2, 3, 4, 5, and 6 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows the temperature at an emulsification, and the numerical value of the longitudinal axis shows AUC.

Fig. 6 is a graph showing each blood drug level transition when the microcapsule powder prepared in Example 5 and Example 6 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows time, and the numerical value of the longitudinal axis shows a blood concentration.

Fig. 7 is a graph showing each dispersion time when the microcapsule powder prepared in Example 6 and Comparative Example 1 is respectively suspended into a dispersion medium. The horizontal axis shows the experimenter (total 3), and the numerical value of the

longitudinal axis shows the time for dispersion.

Fig. 8 is a graph showing each blood drug level transition when the microcapsule powder prepared in Example 7 and Comparative Example 4 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows time, and the numerical value of the longitudinal axis shows the blood concentration.

Fig. 9 is a graph showing each blood drug level transition when the microcapsule powder prepared in Examples 8 and 10, and Comparative Example 5 is respectively subcutaneously administered to a rat. The numerical value of the horizontal axis shows time, and the numerical value of the longitudinal axis shows the blood concentration.

Best Mode for Carrying Out the Invention

While the water-soluble physiologically active peptide to be used in the present invention is not limited particularly as long as it is pharmacologically useful, for example, a physiologically active peptide having a molecular weight of about 300 to about 40,000, preferably, about 400 to about 30,000, more preferably, about 500 to about 20,000 is suitable.

The physiologically active peptide includes, for example, luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH),

insulin, somatostatin, growth hormone, growth hormone releasing hormone (GH-RH), prolactin, erythropoietin, adrenal cortical hormone, melanocyte-stimulating hormone, thyroid-hormone releasing hormone, thyroid-stimulating hormone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, vasopressin, oxytocin, calcitonin, gastrin, secretin, pancreozymin, cholecystokinin, angiotensin, human placental lactogen, human chorionic gonadotropin, enkephalin, endorphin, kyotorphin, tuftsin, thymopoietin, thymosin, thymothymulin, thymic humoral factor, blood thymic factor, tumor necrosis factor, colony-inducing factor, motilin, dynorphin, bombesin, neurotensin, caerulein, bradykinin, atrial natriuretic factor, nerve growth factor, cell growth factor, neurotrophic factor, and peptides having an antagonistic action against endothelin, and derivatives thereof, and further includes the fragments thereof or the derivatives of the fragments and the like.

The physiologically active substance to be used in the present invention may be as it is, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

Examples of such a salt include, in the case that the physiologically active substance has a basic group such as an amino group, a salt with an inorganic acid (referred to also as an inorganic free acid) (e.g., carbonic acid, bicarbonic acid, hydrochloric acid, sulfuric acid, nitric

acid, boric acid, etc.), an organic acid (referred to also as an organic free acid) (e.g., succinic acid, acetic acid, propionic acid, trifluoroacetic acid, etc.) or the like.

Examples of the salt include, in the case that the physiologically active substance has an acidic group such as a carboxyl group, a salt with an inorganic base (referred to also as an inorganic free base) (e.g., alkaline metal such as sodium and potassium, alkaline earth metal such as calcium and magnesium, etc.), an organic base (referred to also as an organic free base) (e.g., organic amines such as triethylamine, basic amino acids such as arginine, etc.) or the like. Moreover, the physiologically active peptide may form a metal complex compound (e.g., a copper complex, a zinc complex, etc.).

A preferred example of the physiologically active peptide includes an LH-RH derivative that is useful for a hormone dependent disease, especially, sex hormone dependent disease such as sex hormone dependent cancer (e.g., prostatic cancer, uterus cancer, breast cancer, hypophyseal tumor, etc.), benign prostatic hypertrophy, endometriosis, uterine fibroid, precocious puberty, dysmenorrhea, amenorrhea, premenstrual syndrome, multilocular ovarian syndrome and the like, and contraception (or infertility in the case of utilizing a rebound effect after the drug withdrawal) and premenopausal

breast cancer postoperative recurrence, and a salt thereof. Furthermore, the example includes an LH-RH derivative that is effective for a benign or malignant tumor that is independent from sex hormone but susceptible to LH-RH, or the salt thereof.

A specific example of the LH-RH derivatives or the salt thereof includes, for example, Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives [issued by The Parthenon Publishing Group Ltd., 1996] and a peptide described in JP-A 3-503165, JP-A 3-101695, JP-A 7-97334, JP-A 8-259460, and the like.

Examples of the LH-RH derivative include a LH-RH agonist or a LH-RH antagonist. As the LH-RH antagonist, for example, a physiologically active peptide represented by a general formula [I]:

X-D2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-A-B-Leu-C-Pro-DAlaNH$_2$

wherein, X represents N(4H$_2$-furoyl)Gly or NAc, A represents a residue selected from NMeTyr, Tyr, Aph(Atz), and NMeAph(Atz), B represents a residue selected from DLys(Nic), DCit, DLys(AzaglyNic), DLys(AzaglyFur), DhArg(Et$_2$), DAph(Atz), and DhCi, and C represents Lys(Nisp), Arg, or hArg(Et$_2$), or a salt thereof is used.

As the LH-RH agonist, for example, a physiologically active peptide represented by a general formula [II]:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

wherein, Y represents a residue selected from DLeu, DAla, DTrp, DSer(tBu), D2Nal and DHis(ImBzl), and Z represents $NH-C_2H_5$ or $Gly-NH_2$, or the salt thereof is used. In particular, a peptide in which Y is DLeu and Z is $NH-C_2H_5$ (that is, Peptide A represented by 5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-$NH-C_2H_5$: leuprorelin) or a salt thereof (e.g., acetate) is suitable.

Those peptides can be prepared by a method described in the foregoing references or the publications or analogous methods thereof.

The abbreviations used herein represent the following:

Abbreviation: Name

N($4H_2$-furoyl)Gly: N-tetrahydrofuroylglycine residue

NAc: N-acetyl group

D2Nal: D-3-(2-naphthyl)alanine residue

D4ClPhe: D-3-(4-chloro)phenylalanine residue

D3Pal: D-3-(3-pyridyl)alanine residue

NMeTyr: N-methyltyrosine residue

Aph(Atz): N-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolyl)]phenylalanine residue

NMeAph(Atz): N-methyl-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolyl)]phenylalanine residue

DLys(Nic): D-(e-N-nicotinoyl)lysine residue

Dcit: D-citrulline residue

DLys(AzaglyNic): D-(azaglycylnicotinoyl)lysine residue

DLys(AzaglyFur): D-(azaglycylfuranyl)lysine residue

DhArg(Et_2): D-(N,N'-diethyl)homoarginine residue

DAph(Atz): D-N-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolyl)]phenylalanine residue

DhCi: D-homocitrulline residue

Lys(Nisp): (e-N-isopropyl)lysine residue

hArg(Et_2): (N,N'-diethyl)homoarginine residue

Otherwise, an amino acid, when designated as an abbreviation, is based on an abbreviation by IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (European Journal of Biochemistry, Vol. 138, pages 9 to 37, 1984) or a common abbreviation in the art, and when an amino acid can have optical isomers, unless otherwise specified, it represents an L form.

The lactic acid polymer to be used in the present invention (hereinafter, occasionally abbreviated as lactic acid polymer of the present invention) includes a polymer consisting only of lactic acid, or a copolymer of lactic acid and other monomer (e.g., glycolic acid, etc.). The lactic acid polymer includes polylactic acid or polylactide. As the copolymer of lactic acid-glycolic acid, those having a composition ratio of lactic acid/glycolic acid of 60/40 to 99.9/0.1 can be used. In the sustained-release preparation of the present invention, polylactic acid or polylactide is preferred, especially, poly-DL-lactic acid

or poly-DL-lactide is preferred.

Furthermore, the weight-average molecular weight of the lactic acid polymer used in the sustained-release preparation of the present invention is usually about 11,000 to about 27,000, preferably, about 11,600 to about 20,000 or about 19,000 to about 27,000. In particular, in the sustained-release preparation in which the release of the physiologically active substance in vivo from the preparation can maintain an effective drug blood concentration for a period from about 60 days to 130 days, about 11,600 to about 20,000 is preferable, about 12,000 to about 19,000 is more preferable, and about 13,000 to about 18,000 is further more preferable. On the other hand, in the sustained-release preparation in which the release of the physiologically active substance in vivo from the preparation can maintain an effective drug blood concentration for a period from about 120 days to 400 days, about 19,000 to about 27,000 is preferable, about 19,500 to about 26,500 is more preferable, and about 20,000 to about 26,000 is further more preferable.

When the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,600 to about 20,000, it is preferable that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.9. When the weight-average molecular weight

(Mw) of the lactic acid polymer is about 19,000 to about 27,000, it is preferable that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.5. Here, a weight-average molecular weight (Mw) and a number-average molecular weight (Mn) can be measured by a gel permeation chromatography (GPC).

In addition, the lactic acid polymer to be used in the sustained-release preparation in which the release of the physiologically active substance in vivo from the preparation can maintain an effective drug blood concentration for a period from about 120 days to 400 days is a polymer wherein, usually, a content of a polymer having a molecular weight of 5,000 or less is about 5% by weight or less, preferably, a content of a polymer having a molecular weight of 5,000 or less is about 5% by weight or less and a content of a polymer having a molecular weight of 3,000 or less is about 1.5% by weight or less, further preferably, a content of a polymer having a molecular weight of 5,000 or less is about 5% by weight or less, a content of a polymer having a molecular weight of 3,000 or less is about 1.5% by weight or less and a content of a polymer having a molecular weight of 1,000 or less is about 0.1% by weight or less.

A lactic acid polymer having a high-molecular weight

to be a raw material of the lactic acid polymer of the present invention may be commercially available or those polymerized by a known method, and the weight-average molecular weight is usually about 11,000 to about 27,000, preferably, about 11,600 to about 20,000 or about 19,000 to about 27,000.

The known polymerization method includes, for example, a method of polycondensing lactic acid and glycolic acid if necessary, for example, a method by ring-opening polymerization of lactide, and if necessary, together with glycolide with using a catalyst such as Lewis acid such as diethyl zinc, triethyl aluminum and tin octylate, or metal salt, a method by ring-opening polymerization of lactide further in the presence of a hydroxycarboxylic acid derivative whose carboxyl group is protected, in the above-described method (e.g., International Publication WO 00/35990, and the like), in addition to a method by ring-opening polymerization wherein a catalyst is added to lactide under heating (e.g., J. Med. Chem, 16, 897 (1973)) and, for example, a method of copolymerizing lactide and glycolide.

Examples of the polymerization form include a bulk polymerization wherein lactide and the like is melted to be subjected to a polymerization, a solution polymerization wherein lactide and the like is dissolved in an appropriate

solvent to be subjected to a polymerizaion. Among them, it is preferable in industrial production that a polymer obtained by a solution polymerization is used as a raw material of a lactic acid polymer of the present invention.

Examples of the solvent for dissolving lactide in the solution polymerization include aromatic hydrocarbons such as benzene, toluene and xylene, and dekalin, dimethylformamide and the like.

For hydrolyzing the lactic acid polymer having high-molecular weight obtained as described above, a hydrolysis method known per se is used, for example, the lactic acid polymer having a high-molecular weight may be dissolved in an appropriate solvent and then, react with adding water and if necessary, an acid.

Examples of the solvent for dissolving the lactic acid polymer having a high-molecular weight include a solvent that can dissolve the lactic acid polymer with an amount of 10-fold weight or less of the polymer, and specifically include a halogenated hydrocarbons such as chloroform and dichloromethane, aromatic hydrocarbons such as toluene, o-xylene, m-xylene and p-xylene, and cyclic ethers such as tetrahydrofuran, acetone, N,N-dimethylformamide and the like. Additionally, in the polymerization of a lactic acid polymer having a high-molecular weight, when a solvent available for hydrolysis of a lactic acid polymer having a

high-molecular weight is used, operations of the polymerization and the hydrolysis can be performed continuously without isolation of the polymerized lactic acid polymer having a high-molecular weight.

The amount of the solvent to be used for dissolving the lactic acid polymer having a high-molecular weight is generally 0.1 to 100 times, preferably 1 to 10 times to the lactic acid polymer as a solute.

The additive amount of water is generally 0.001 to 1-fold weight, preferably 0.01 to 0.1-fold weight to the lactic acid polymer having a high-molecular weight.

The acid to be added if necessary, includes an inorganic acid such as hydrochloric acid, sulfuric acid, and nitric acid, and an organic acid such as lactic acid, acetic acid, trifluoroacetic acid, and preferably a lactic acid.

The additive amount of the acid is generally 0 to 10-fold weight, and preferably 0.1 to 1-fold weight to the lactic acid polymer having a high-molecular weight.

The temperature of the hydrolysis reaction is generally 0 to 150°C, preferably 20 to 80°C.

The time of the hydrolysis reaction may vary depending on the weight-average molecular weight of the lactic acid polymer having a high-molecular weight and the reaction temperature, and is generally 10 minutes to 100 hours, and

preferably 1 to 20 hours.

The termination time of the hydrolysis treatment is determined based on the weight-average molecular weight of the hydrolysis product. That is, sampling is appropriately performed during the hydrolysis treatment, the weight-average molecular weight of the hydrolysis product in the sample is measured by a gel permeation chromatography (GPC) and, if it is confirmed that the molecular weight is in the targeted numeric range, the hydrolysis treatment is terminated.

As a method for precipitating the targeted lactic acid polymer from the solution containing the hydrolysis product obtained by subjecting the lactic acid polymer having a high-molecular weight to hydrolysis as described above, a method contacting the solution containing the hydrolysis product with a solvent that can precipitate the targeted lactic acid polymer contained therein, and the like are exemplified.

Examples of a preferable embodiment of the solution containing hydrolysis product include, for example, a solution in which about 10 to 50 wt% of the lactic acid polymer having a weight-average molecular weight of 15,000 to 50,000, preferably 15,000 to 30,000, more preferably 17,000 to 26,000, especially preferably 17,500 to 25,500 is dissolved in a solvent capable of dissolving the lactic

acid polymer having a high-molecular weight such as halogenated hydrocarbons such as chloroform and dichloromethane, aromatic hydrocarbons such as toluene, o-xylene, m-xylene, and p-xylene, and cyclic ethers such as tetrahydrofuran, acetone, N,N-dimethylformamide. When the sustained-release preparation of the present invention does not contain hydroxynaphthoic acid, a solution in which about 10 to 50wt% of the lactic acid polymer having a weight-average molecular weight of 15,000 to 50,000, preferably 15,000 to 40,000 is dissolved, and the like are exemplified.

Examples of the solvent capable of precipitating the targeted lactic acid polymer contained in the solution containing hydrolysis product include, for example, alcohols such as methanol and ethanol, chain-ethers such as isopropyl ether, aliphatic hydrocarbons such as hexane, water and the like.

The amount to be used of the solvent capable of precipitating the targeted lactic acid polymer is generally 0.1 to 100-fold weight, preferably, 1 to 10-fold weight to the solvent in the solution containing hydrolysis product.

The preferable specific example of the combination of kind and amount to be used of such solvent includes an embodiment wherein isopropyl ether as a solvent for reducing the solubility is used with an amount of 2 to 10-

fold weight to the dichloromethane in terms of the solution containing hydrolysis product wherein 1 to 5-fold weight of dichloromethane is used as a solvent to the solute.

When the solvent capable of precipitating the targeted lactic acid polymer as a solute is contacted with the solution containing hydrolysis product, the temperature of the solvent is generally -20 to 60°C, preferably, 0 to 40°C, and the temperature of the solution containing hydrolysis product is generally 0 to 40°C, preferably 10 to 30°C.

Examples of the method for contacting the solvent and the solution containing hydrolysis product include a method of adding the solution containing hydrolysis product into the solvent at one time, a method of adding dropwise the solution containing hydrolysis product to the solvent, a method of adding the solvent to the solution containing hydrolysis product at one time, or a method of adding dropwise the solvent to the solution containing hydrolysis product.

The lactic acid polymer of the present invention obtained as described above is preferable as a base substrate for a sustained-release preparation because the amount of terminal carboxyl groups is in a preferable range as a base substrate for a sustained-release preparation.

In the sustained-release preparation of the present invention, a fatty acid can be added into the microcapsule

of the sustained-release preparation so that the blood drug concentration is idealized in an onset part within a certain period from the early stage on the administration to a patient and a water-soluble physiologically active peptide as an active ingredient can be stably sustained-released over a more longer period of time.

The fatty acid to be used in the present invention means a carboxylic acid that has a chain structure of straight chain or alkyl group having side chain and has one carboxyl group, as well as benzoic acid, hydroxynaphthoic acid, and pamoic acid. The carboxylic acid that has a chain structure of straight chain or alkyl group having side chain is preferably those having four or more carbons, and specifically includes butyric acid, valeric acid, caproic acid, enanthic acid, caprylic acid, pelargonic acid, capric acid, undecylic acid, lauric acid, tridecylic acid, myristic acid, pentadecylic acid, palmitic acid, heptadecylic acid, stearic acid, nonadecanoic acid, arachidic acid, isocrotonic acid, undecylenic acid, oleic acid, elaidic acid, sorbic acid, linoleic acid, lionlenic acid, arachidonic acid, and the like. Stearic acid, benzoic acid, hydroxynaphthoic acid, pamoic acid and the like are more preferred.

While the additive amount of the fatty acid may vary depending on the kind of fatty acid, the kind of water-

soluble physiological active peptide and additive amount thereof, the period of sustained release, and the like, it is 0.1 to 10 moles, preferably 0.2 to 5 moles, further more preferably 0.25 to 2 moles, especially preferably 0.5 to 1.5 moles, to 1 mole of the water-soluble physiologically active peptide or a salt thereof.

Moreover, the weight ratio of the fatty acid to the whole microcapsule is about 0.01 to about 50% by weight, preferably about 0.1 to about 25% by weight, further more preferably about 2 to 10% by weight.

While the weight ratio of the water-soluble physiologically active peptide in the composition of the present invention may vary depending on the kind of the physiologically active peptide, the desired pharmacological effect, duration of the effect, and the like, it is about 15 to about 35% by weight, preferably, about 16 to about 30% by weight, more preferably about 17 to about 26% by weight, further more preferably about 17 to about 23% by weight, and most preferably about 18 to about 22% by weight to the whole microcapsule (the content of the physiologically active substance in the microcapsule).

While the weight ratio of the physiologically active substance in the composition of the present invention may vary depending on the kind of physiologically active substance, the desired pharmacological effect, duration of

the effect, and the like, it is, in the sustained-release composition containing the physiologically active substance or a salt thereof and the lactic acid polymer or a salt thereof, about 0.001 to about 50% by weight, preferably about 0.02 to about 40% by weight, more preferably about 0.1 to about 30% by weight, and most preferably about 14 to about 24% by weight relative to the sum of the composition, and in the case of non-peptidic physiologically active substance or the salt thereof, the weight ratio is about 0.01 to about 80% by weight, and preferably about 0.1 to about 50% by weight.

The form of the sustained-release composition herein is, but not limited to, preferably a form of fine particles, especially preferably a form of microsphere (referred to also as a microcapsule in the case of the sustained-release composition containing the lactic acid polymer). Moreover, the microsphere herein indicates an injectable spherical fine particle that can be dispersed in a solution. The form can be confirmed through observation by, for example, a scanning electron microscope.

A method for producing the sustained-release composition (for example, a microcapsule) containing the present physiologically active substance or a salt thereof and the present lactic acid polymer or a salt thereof will be exemplified below.

In the following production process, where appropriate, a drug retaining agent (e.g., gelatin, salicylic acid and the like) may be added by a method known per se.

In the present method, firstly, the lactic acid polymer of the present invention (hereinafter, referred to also as a biodegradable polymer of the present invention) or a salt thereof is dissolved in a volatile water-immiscible first solvent to prepare a first solution. The solvent used as the above-described first solvent has preferably a boiling point of 100°C or lower.

As the first solvent, for example, a halogenated hydrocarbon (e.g., dichloromethane, chloroform, dichloroethane, trichloroethane, carbon tetrachloride, and the like), ethers (e.g., diethyl ether, diisopropyl ether, and the like), a fatty ester (e.g., ethyl acetate, butyl acetate, and the like), an aromatic hydrocarbon (e.g., benzene, toluene, xylene, and the like) are used. Among them, a halogenated hydrocarbon is preferable, and dichloromethane is especially suitable. Moreover, they may be mixed to use at an appropriate ratio.

The concentration of the biodegradable polymer of the present invention in an organic solvent solution may vary depending on the molecular weight of the biodegradable polymer of the present invention and the kind of the organic solvent, but, for example, when dichloromethane is

used as an organic solvent, the concentration is generally selected from about 0.5 to about 70% by weight, more preferably about 1 to about 60% by weight, and especially preferably about 33 to about 45% by weight.

Then, the physiologically active substance comprised of the water-soluble physiologically active peptide is dissolved in a water-miscible second solvent to prepare a second solution. The water-miscible solvent used as the above second solvent is miscible with water at a constant rate, and preferably has a boiling point of 100°C or lower.

As the second solvent, for example, lower alcohols (e.g., methanol, ethanol, propanol, and the like), acetonitrile, acetone, tetrahydrofuran and the like are used. Among them, a lower alcohol is preferable, and methanol and ethanol are especially suitable. In addition, they may be mixed to use at an appropriate ratio.

Furthermore, as a solvent to dissolve the lactic acid polymer or a salt thereof in preparing the first solution, in addition to the use of the first solvent, a water-miscible third solvent can be added thereto. In this case, the third solvent can be selected from the same solvent as the second solvent.

Subsequently, the resultant first solution and the second solution are mixed to prepare a third solution. The resultant third solution is preferably a solution wherein

the lactic acid polymer or a salt thereof and the physiologically active substance are uniformly dissolved, and additionally, in the next step, the lactic acid polymer or a salt thereof and the physiologically active substance are not deposited during the process of removing the solvent from the solution.

In this case, the physiologically active substance is to be added so that the physiologically active substance is contained with the amount of 15 to 35 (weight/weight)% to the whole microcapsule (content of the physiologically active substance in microcapsule). Therefore, the loading amount of drug such as physiologically active substance is about 17 to about 50% by weight, preferably about 18 to about 43% by weight, more preferably about 19 to about 38% by weight, further more preferably about 19 to about 25% by weight, and most preferably about 20 to about 23% by weight. Herein, the loading amount is a calculated rate of the added amount of physiologically active substance to the total additive amount of each component comprising the microcapsule in the preparation. On the other hand, the entrapment ratio of the drug such as physiologically active substance is about 75% by weight or more, preferably about 80% by weight or more, more preferably about 82% by weight or more, further more preferably about 85% by weight or more, and most preferably about 89% by weight or more.

Herein, the entrapment ratio is a calculated rate of the drug incorporated into microcapsule to the added amount of the physiologically active substance.

The volume ratio of the above water-immiscibile solvent and water-miscible solvent (including the third solvent in the case that the third solvent is added to the first solvent) to be used in the step preparing the third solution is generally 35:65 to 55:45.

Then, the resultant third solution is dispersed into a fourth solution comprised of aqueous solution of an emulsifier to prepare the O (oil phase)/W (water phase) emulsion, and then microcapsule is prepared by removing the above-mentioned first and second solvents. When a third solvent is added to the first solvent, the third solvent is simultaneously removed at this step. In this case, the water phase volume is generally selected from about 1 to about 10,000 times, more preferably about 5 to about 5,000 times, and especially preferably about 10 to about 2,000 times of the oil phase volume.

The emulsifier contained in the above water phase generally may be any emulsifier which can form a stable O/W emulsion. Specifically, for example, anionic surfactants (e.g., sodium oleate, sodium stearate, sodium lauryl sulfate, and the like), nonionic surfactants (e.g., polyoxyethylene sorbitan fatty ester [Tween 80, Tween 60;

Atlas Powder Co. Ltd], polyoxyethylene castor oil derivatives [HCO-60, HCO-50, Nikko Chemicals Co. Ltd] , and the like), polyvinylpyrrolidone, polyvinyl alcohol, carboxymethylcellulose, lecithin, gelatin, and hyaluronic acid are used. One kind or some of these may be used alone or in combination. The concentration upon use is preferably in the range of about 0.01 to 10% by weight, and more preferably in the range of about 0.05 to about 5% by weight.

An osmo-regulator may be added to the above water phase. Said osmo-regulator may be any one which shows an osmotic pressure in aqueous solution.

Examples of the osmo-regulators include, for example, polyvalent alcohols, monovalent alcohols, monosaccharides, disaccharides, oligosaccharide and amino acids or derivatives thereof.

For the above polyvalent alcohols, for example, trivalent alcohols such as glycerin, pentavalent alcohols such as arabitol, xylitol, and adonitol, hexavalent alcohols such as mannitol, sorbitol and dulcitol are used. Among them, hexavalent alcohols is preferable, and mannitol is especially suitable.

The above monovalent alcohols include, for example, methanol, ethanol, and isopropyl alcohol, and among them, ethanol is preferable.

For the above monosaccharides, for example, pentoses such as arabinose, xylose, ribose and 2-deoxyribose, hexoses such as glucose, fructose, galactose, mannose, sorbose, rhamnose and fucose are used, and among them, hexoses are preferable.

For the above oligosaccharide, for example, trisaccharide such as maltotriose and raffinose, tetrasaccharide such as stachyose are used, and among them, trisaccharide is preferable.

As the derivatives of the monosaccharide, disaccharides and oligosaccharide mentioned above, for example, glucosamine, galactosamine, glucuronic acid, galacturonic acid and the like are used.

As the above amino acids, any one can be used as long as it is L-form. For example, glycine, leucine, arginine and the like are exemplified. Among them, L-arginine is preferable.

These osmo-regulators may be used alone or with a mixture.

These osmo-regulators are used at a concentration that makes the osmotic pressure of outer water phase about 1/50 to about 5 times, preferably about 1/25 to about 3 times of the osmotic pressure of a physiological saline. When mannitol is used as the osmo-regulator, the concentration is preferably 0.5 to 1.5%.

As the method for removing the first and second solvents (including a third solvent, when third solvent is added to the first solvent; the same is applied hereinafter), a method known per se or analogous method thereto is used. The examples of the method include a method for evaporating an organic solvent under ambient pressure or with gradually reducing pressure with stirring by a propeller type stirrer, magnetic stirrer or the like, and a method for evaporating an organic solvent with regulating vacuum using rotary evaporator, and the like. Especially, an in-water drying method wherein the solvent is removed with stirring under ambient pressure is preferable.

In the sustained-release preparation of the present invention, the control temperature of the emulsification process in which the first and second solvents are removed may be adjusted in order to idealize the blood drug concentration of a maintenance part in one month or later after the administration to patients, and stably and sustainably release the water-soluble physiologically active peptide as an active ingredient.

The control temperature of the emulsification process in which the first and second solvents are removed can be adjusted to, for example, about 5 to 50°C. Further, it is preferably adjusted to about 15 to 35°C, especially about

15 to 30°C. In this case, the method for controlling temperature includes a method of adjusting the above O/W emulsion to the above temperature, and a method of preparing an emulsion by mixing the third and fourth solutions adjusted to the above temperature, as well as a method of placing all processes of the emulsification process in an environment set at the control temperature.

The microcapsule thus obtained is collected by centrifugation or filtration, and then washed repeatedly with distilled water several times to remove the free physiologically active substance, emulsifier and the like which are adhered to the surface of microcapsule, and then the microcapsule is re-dispersed into distilled water before lyophilized.

During the preparation process, an agglutination inhibitor may be added to prevent agglutination of the particles. The agglutination inhibitor includes, for example, a water-soluble polysaccharide such as mannitol, lactose, glucose, and starches (e.g., corn starch), amino acids such as glycine, and proteins such as fibrin and collagen. Among them, mannitol is suitable.

The additive amount of the agglutination inhibitor such as mannitol is generally 0 to about 24% by weight to the whole microcapsule.

In addition, after lyophilization, where necessary,

the microcapsules may be heated under reduced pressure and the condition of not causing a mutual fusion of microcapsules, to remove water and the organic solvents in microcapsules. It is preferable to heat at a temperature around or slightly higher than the intermediate point glass transition temperature of biodegradable polymer determined by a differential scanning calorimeter under the conditions of temperature increasing speed of 10 to 20°C per minute. It is more preferable to heat at a temperature around the intermediate point glass transition temperature of biodegradable polymer or within the range of temperature higher by about 30°C than the intermediate point glass transition temperature. Especially, when a lactic acid-glycolic acid polymer is used as a biodegradable polymer, heating is conducted preferably at temperatures lying within the range from around the intermediate point glass transition temperature to a temperature higher than the intermediate point glass transition temperature by 10°C, further preferably at temperatures lying within the range from around the intermediate point glass transition temperature to a temperature higher than the intermediate point glass transition temperature by 5°C.

Although the heating time may vary depending on the amount of microcapsules and the like, it is generally about 12 hours to 168 hours, preferably about 24 hours to 120

hours, especially preferably about 48 hours to 96 hours after the microcapsule itself reached the predetermined temperature.

The heating method is not especially limited as long as a set of microcapsules can be uniformly heated.

As the heat-drying method, for example, a method of heat-drying in thermostat bath, fluidized bath, moving bath or kiln, and a method of heat-drying by microwave. Among them, the method of heat-drying in thermostat bath is preferable.

In the production of the sustained-release preparation containing a fatty acid of the present invention, it can be prepared by adding a fatty acid to the first solution that is a polymer solution and/or the second solution that is a physiologically active peptide solution or the third solution that is a mixed solution thereof.

A method for preparing the sustained-release preparation containing a fatty acid of the present invention is exemplified below.

In the method, first, the lactic acid polymer of the present invention or a salt thereof is dissolved in a volatile and water-immiscible first solvent to prepare a first solution. In the solvent used as the above first solvent, preferably the boiling point is 100°C or lower.

The first solvent includes, for example, halogenated

hydrocarbons (e.g., dichloromethane, chloroform, dichloroethane, trichloroethane, carbon tetrachloride, and the like), ethers (e.g., ethyl ether, isopropyl ether, and the like), fatty esters (e.g., ethyl acetate, butyl acetate, and the like), aromatic hydrocarbons (e.g., benzene, toluene, xylene, and the like). Among them, halogenated hydrocarbons are preferable, and especially dichloromethane is suitable. They may be mixed to use at an appropriate ratio.

The concentration of the biodegradable polymer of the present invention in the organic solvent solution may vary depending on the molecular weight of the biodegradable polymer of the present invention and the kind of organic solvent, and for example, when dichloromethane is used as an organic solvent, the concentration is selected generally from about 0.5 to about 70% by weight, more preferably about 1 to about 60% by weight, especially preferably about 33 to about 45% by weight.

When the fatty acid is added to the first solution that is a polymer solution, the fatty acid is added to the first solvent after the biodegradable polymer is dissolved into the first solvent or when the biodegradable polymer is dissolved into the first solvent. At this time, if the fatty acid is dissolved when the third solution described below is prepared, the fatty acid does not need to be

completely dissolved at this step, but a solubilizing agent can be used to dissolve the fatty acid as appropriate. The solubilizing agent is not especially limited as long as it can be used as the first solvent or as the second solvent that is a solvent for a physiologically active peptide, and lower alcohols to be used as the second solvent are preferred, and methanol and ethanol are particularly preferred. In addition, it may be heated to dissolve the fatty acid.

Then, the physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide is dissolved in a water-miscible second solvent to prepare a second solution. The solvent used as above second solvent is miscible with water at a constant rate, and the boiling point is preferably 100°C or lower.

As the second solvent, for example, lower alcohols (e.g., methanol, ethanol, propanol, and the like), acetonitrile, acetone, tetrahydrofuran, and the like are used. Among them, lower alcohols are preferable, and especially methanol or ethanol is suitable. Further, they may be mixed to use at an appropriate ratio.

In addition, as a solvent for dissolving the lactic acid polymer or a salt thereof in the preparation of the first solution, in addition to the use of the first solvent, further a water-miscible third solvent can be added thereto.

In this case, the third solvent may be selected from the same solvents as the second solvents.

When the fatty acid is added to the second solution which is a solution of physiologically active peptide, the fatty acid is added to the second solvent after the physiologically active peptide is dissolved in the second solvent or when the physiologically active peptide is dissolved in the second solvent. At this time, if the fatty acid is dissolved when the third solution described below is prepared, the fatty acid does not need to be completely dissolved at this step, but a solubilizing agent can be used to dissolve the fatty acid as appropriate. The solubilizing agent is not limited as long as it can be used as the first solvent or as the second solvent. In addition, it may be heated to dissolve the fatty acid.

Subsequently, the obtained first and second solutions are mixed to prepare the third solution. It is desirable that the third solution obtained here a solution wherein the lactic acid polymer or a salt thereof and the physiologically active substances are uniformly dissolved, and additionally, in the next step, the lactic acid polymer or a salt thereof and the physiologically active substance are not deposited during the process of removing the solvent from the solution. Further, when a fatty acid is added, it is desirable that the fatty acid is uniformly

dissolved, and further in the next step, it is not precipitated.

In this case, the physiologically active substance is to be added so that the physiologically active substance is contained with the amount of 15 to 35 (weight/weight)% to the whole microcapsule (a content of the physiologically active substance in microcapsule). Therefore, the loading amount of drug as a physiologically active substance is about 17 to about 50 % by weight, preferably about 18 to about 43 % by weight, more preferably about 19 to about 38 % by weight, further more preferably about 19 to about 25 % by weight, most preferably about 20 to about 22% by weight. A loading amount is a calculated rate of the added amount of the physiologically active substance to the total additive amount of each component comprising microcapsule in the preparation. The entrapment ratio of drug such as physiologically active substance is about 75 % by weight or more, preferably about 80 % by weight or more, more preferably about 82 % by weight or more, further more preferably about 85 % by weight or more, most preferably about 89% by weight or more. Herein, the entrapment ratio is a calculated rate of the drug incorporated into microcapsule to the additive amount of the physiologically active substance.

The volume ratio of the above water-immiscible solvent

and water-miscible solvent (including the third solvent when the third solvent is added to the first solvent) to be used in the step of preparing the third solution is generally 35:65 to 55:45.

When a fatty acid is added to the third solution which is a solution of physiologically active peptide, the fatty acid is added to the third solution when the first and second solutions are mixed or after the first and second solutions are mixed. At this time, a solubilizing agent can be used to dissolve the fatty acid as appropriate. The solubilizing agent is not limited as long as it can be used as the first solvent or as the second solvent, and lower alcohols used as the second solvent are preferred, and methanol and ethanol are particularly preferred. In addition, the solvent may be heated to dissolve the fatty acid.

As mentioned above, the fatty acid can be added at any step in the process for preparing the first solution and/or the second solution or for preparing the third solution that is a mixed solution thereof. The timing of the addition of the fatty acid is not limited as long as the fatty acid is dissolved in an oil phase at the time when the third solution is emulsified into the fourth solution to form an emulsion, and it is determined depending on the kind of the fatty acid and the kind of the solvent used in

each step because the solvent to dissolve may vary depending on the kind of the fatty acid. The fatty acid is preferably added to a solvent having a high-solubility of the fatty acid used because if the fatty acid is added to a solvent having a low-solubility, a solubilizing agent may be needed, and there is a possibility that a ratio of the first and second solvents is influenced. When a stearic acid is used as fatty acid, it is preferable to add to the second solvent and heat to dissolve together the physiologically active peptide.

Then, the resultant third solution is dispersed into a fourth solution comprised of an aqueous solution of an emulsifier to prepare the O (oil phase)/W (water phase) emulsion, and microcapsule is prepared by removing the above-mentioned first solvent and second solvent. When a third solvent is added to the first solvent or a solubilizing agent is used to dissolve the fatty acid, the third solvent or the solubilizing agent is simultaneously removed at this step. In this step, the water phase volume is generally selected from about 1 to about 10,000 times, more preferably about 5 to about 5,000 times, especially preferably about 10 to about 2,000 times of an oil phase volume.

For the emulsifier contained in the above water phase, the same emulsifier as those exemplified in the above

sustained-release preparation not containing the fatty acid can be used.

In addition, an osmo-regulator may be added to the above water phase. The osmo-regulator may be any osmo-regulator which shows an osmotic pressure in the water solution thereof, and the same osmo-regulator as those exemplified in the above sustained-release preparation not containing the fatty acid can be used.

As a method for removing the first and second solvent (including a third solvent or a solubilizing agent, when third solvent is added to the first solvent or solubilizing agent is used to dissolve the fatty acid; the same is applied hereinafter), a method known per se or an analogous method thereto is used. For example, an example of the method includes a method of evaporating organic solvent under ambient pressure or with gradually reducing pressure as stirring using a propeller type stirrer or a magnetic stirrer, or a method of evaporating organic solvent by regulating vacuum degree with rotary evaporator. In particular, an in-water drying method wherein a solvent is removed with stirring under ambient pressure is preferable.

The control temperature of the emulsification process in which the first and second solvents are removed can be adjusted to, for example, about 5 to 50°C. Further, it is preferable to adjust to about 15 to 35°C. In this case, a

method for controlling temperature includes a method of adjusting the above O/W emulsion to the above temperature, and a method of preparing an emulsion by mixing the third and fourth solutions adjusted to the above temperature, as well as a method of placing all processes of the emulsification process in an environment set at the control temperature.

The microcapsule thus obtained is collected by centrifugation or filtration, and then washed repeatedly with distilled water several times to remove the free physiologically active substance, emulsifier and the like which is adhered to the surface of the microcapsule, and then the microcapsule is re-dispersed into distilled water before lyophilized.

During the preparation process, an agglutination inhibitor may be added to prevent agglutination of the particles. The agglutination inhibitor includes, for example, a water-soluble polysaccharides such as mannitol, lactose, glucose, and starches (e.g., corn starch), amino acids such as glycine, and proteins such as fibrin and collagen. Among them, mannitol is suitable.

The additive amount of the agglutination inhibitor such as mannitol is generally 0 to about 24% by weight to the whole microcapsule.

In addition, after lyophilization, where appropriate,

the microcapsules may be heated under reduced pressure and the condition of not causing a mutual fusion of microcapsules, to remove water and the organic solvents in microcapsules. It is preferable to heating at a temperature around or slightly higher than the intermediate point glass transition temperature of biodegradable polymer determined by a differential scanning calorimeter under the condition of temperature increasing speed of 10 to 20°C per minute. It is more preferable to heat at a temperature around the intermediate point glass transition temperature of biodegradable polymer or within the range of temperature higher by about 30°C than the intermediate point glass transition temperature. Especially, when a lactic acid-glycolic acid polymer is used as a biodegradable polymer, heating is conducted preferably at temperatures lying within the range from around the intermediate point glass transition temperature to a temperature higher than the intermediate point glass transition temperature by 10°C, further more preferably at temperatures lying within the range from around the intermediate point glass transition temperature to a temperature higher than the intermediate point glass transition temperature by 5°C.

Although the heating time may vary depending on the amount of microcapsule, it is generally about 12 hours to 168 hours, preferably about 24 hours to 120 hours,

especially preferably about 48 hours to 96 hours after the microcapsule itself reached the predetermined temperature.

The heating method is not especially limited as long as a set of microcapsules can be uniformly heated.

As the heat-drying method, for example, a method of heat-drying in thermostat bath, fluidized bath, moving bath, or kiln, and a method of heat-drying by microwave. Among them, the method of heat-drying in thermostat bath is preferable.

The sustained-release preparation of the present invention obtained by the above preparation methods can be obtained as a preparation in which a physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide is substantially uniformly dispersed in a microcapsule comprised of a lactic acid polymer or a salt thereof. Herein, the "substantially uniformly dispersed" means that a water-soluble physiologically active peptide is substantially uniformly dispersed in the biodegradable polymer. For example, it includes, but not limited to, a microcapsule hardened by removing organic solvent using in-water drying method from a microcapsule generated by subjecting to an emulsification process with the state that the physiologically active peptide and the biodegradable polymer are fully dissolved in the organic solvent. Thereby, the suppression of initial excessive release of

the physiologically active peptide after administration and a stable drug release in onset part can be achieved, additionally a sustained-release of a physiologically active substance can also be achieved at drug levels in the effective blood concentration for a period from about 60 to 400 days after the administration.

As the sustained-release preparation of the present invention obtained by the above preparing method contains 15 to 35 (weight/weight)% of a water-soluble physiologically active peptide per unit weight of the preparation, the content of the physiologically active substance in the preparation is higher contained than the conventional preparation. As the result, the rate of content of the physiologically active peptide per unit volume of a microcapsule can be elevated to 15 to 35 (weight/weight)%, the volume or weight of the whole sustained-release preparation needed per unit dose of an effective ingredient can be reduced. Thereby, a physical burden of patients such as pain at administration and induration after administration which is considered as the result of the administration of a preparation having large unit volume can be reduced.

The sustained-release composition of the present invention may be in from of microsphere, microcapsule, and microparticle, and microcapsule is suitable.

The sustained release composition of the present invention can be administered as itself or formulated as a starting material into any of various dosage forms such as an intramuscular, subcutaneous or organ injection or implantation formulation, a nasal, rectal and intrauterine mucosal formulation, an oral formulation (e.g., a solid dosage form such as capsule (e.g., hard capsule and soft capsule, and the like), granule and powder, or a liquid formulation such as a syrup, an emulsion, a suspension, and the like) and the like.

For example, when the sustained-release composition of the present invention is formulated into an injection formulation, it can be formulated into an aqueous suspension together with a dispersing agent (e.g., surfactant such as Tween 80 and HCO-60, polysaccharide such as sodium hyaluronate, carboxymethyl cellulose, sodium arginate, and the like), a preservative (e.g., methylparaben, propylparaben, and the like), an isotonic agent (e.g., sodium chloride, mannitol, sorbitol, glucose, proline, and the like), or into an oil suspension by dispersing together with a vegetable, oil such as sesame oil and corn oil to obtain a practically utilizable sustained release injection formulation.

When the sustained-release preparation of the present invention is dispersed into a dispersion medium then

administered as an aqueous suspension, it has excellent easy dispersibility against the dispersion medium and is stable for a period of 24 hours or more after dispersing. Thereby, an operativity related with preparing at administration on medical site can be better.

A particulate diameter of the sustained-release composition of the present invention, when used as a suspending injection formulation, is any diameter within range satisfying the dispersibility and needle permeability, for example, a mean particulate diameter is about 0.1 to 300 μm, preferably about 0.5 to 150 μm, more preferably about 1 to 100 μm.

A method of making the sustained-release composition of the present invention to a sterile preparation includes, but not limited to, a method of making all preparing process to be sterile, a method of sterilizing by gamma-ray, and a method of adding an antiseptic agent.

The sustained-release composition of the present invention is low toxicity, thus it can be used in a mammal (e.g., human, cattle, pig, dog, cat, mouse, rat, and rabbit, ant the like) as a safe medicine.

While a dose of the sustained-release composition of the present invention may vary depending on the type and content of a physiologically active substance as a main ingredient, the dosage form, the duration of the release of

a physiologically active substance, the target disease, and the target animal, it may be an effective amount of the physiologically active substance. A single dose of the physiologically active substance as a main ingredient, for example when the sustained release preparation is a 6-month preparation, can be appropriately selected from preferably about 0.01 to 10 mg/kg weight per an adult, more preferably about 0.05 to 5 mg/kg weight per an adult.

The single dose of the sustained-release composition can be appropriately selected from preferably a range from about 0.05 to 50 mg/kg weight pre an adult, more preferably a range from about 0.1 to 30 mg/kg weight pre an adult.

A frequency of administration can be appropriately selected depending on the type and content of a physiologically active substance as a main ingredient, the dosage form, the duration of the release of a physiologically active substance, the target disease, and the target animal, such as once per several weeks, once a month, once per several months (e.g., 3, 4, or 6 months, and the like).

The sustained-release preparation of the present invention can suppress an excessive release of the water-soluble physiologically active peptide within 1 day after the administration, and stabilize the blood drug concentration in patient body over the long-term by the

stable release of the drug in an onset part for a period from 1 day to about 1 month after the administration. As a result, the release of the physiologically active substance can be maintained at the effective blood drug concentration for a period from about 60 to 400 days after the administration.

That is, when the sustained-release preparation of the present invention is administered, for example applying to an experimental animal such as rat and the like, the ratio of a maximum blood concentration of the active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 24 hours to 1 month after the administration is 2 to 90, and the ratio of the maximum blood concentration of active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 1 month after the administration to the sustained-release period the preparation predetermines is 20 to 500. Area under the blood concentration-time curve (AUC) of the active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 1 to 30% of the total AUC, and AUC of the active ingredient from 24 hours to 1 month after the administration calculated from the blood concentration is 10 to 80% of the total AUC, and AUC of the active ingredient from 1 month after the

administration to the sustained-release period the preparation predetermines is 10 to 90% of the total AUC.

In particular, when the sustained-release preparation of the present invention using a lactic acid polymer which the weight-average molecular weight (Mw) is about 11,600 to about 20,000 is administered to a patient, the release of the physiologically active substance from the sustained-release composition in vivo can be maintained at the effective blood drug concentration for a period from about 60 to 130 days. In this case, for example, as applying to an experimental animal such as rat and the like, the ratio of the maximum blood concentration of the active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 24 hours to 1 month after the administration is 2 to 50, and the ratio of the maximum blood concentration of the active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 1 month to 3 months after the administration is 20 to 350. AUC of the active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 3 to 30% of the total AUC, and AUC of the active ingredient from 24 hours to 1 month after the administration calculated from the blood concentration is 40 to 80% of the total AUC, and AUC of the active

ingredient from 1 month to 3 months after the administration is 10 to 35% of the total AUC.

When the sustained-release preparation of the present invention using a lactic acid polymer which the weight-average molecular weight (Mw) is about 19,000 to about 27,000 is administered to a patient, the release of the physiologically active substance from the sustained-release composition in vivo can be maintained at the effective blood drug concentration for a period from about 120 to 400 days. In this case, for example, as applying to an experimental animal such as rat and the like, the ratio of the maximum blood concentration of the active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 24 hours to 1 month after the administration is 10 to 90, and the ratio of the maximum blood concentration of the active ingredients within 24 hours after the administration to the average blood concentration of the active ingredients from 1 month to 6 months after the administration is 20 to 500. AUC of the active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 1 to 20% of the total AUC, and AUC of the active ingredient from 24 hours to 1 month after the administration calculated from the blood concentration is 10 to 50% of the total AUC, and AUC of the active ingredient from 1 month to

6 months after the administration is 40 to 90% of the total AUC.

A release property of a drug in the sustained-release composition of the present invention is influenced by a loading amount of the drug on preparing, additives such as stearic acid, several above described conditions such as other preparing conditions or a formulation. Therefore, an ideal blood concentration pattern corresponding to the intended sustained-release period can be selected by regulating them as appropriate. Particularly, the regulation of the loading amount of a drug in preparing or the additives such as stearic acid enable a control of a release rate on onset part (from 24 hours to 1 month after administration) and thus a sustained-release preparation showing an ideal blood concentration pattern can be prepared.

While a sustained-release composition of the present invention can be used as a prophylactic/therapeutic agent against various diseases depending on the type of the physiologically active substance contained therein, for example, when the physiologically active substance is an LH-RH derivative, it can be used as a prophylactic/therapeutic agent against a hormone-dependent disease, especially a sex hormone dependent disease such as a sex hormone dependent cancer (e.g., prostate cancer,

uterine cancer, breast cancer, and pituitary tumor, etc.), prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, precocious puberty, dysmenorrhea, amenorrhea, premenstrual syndrome, and multilocular ovarian syndrome, a prophylactic agent against premenopausal breast cancer postoperative recurrence, a prophylactic/therapeutic agent against a disease such as Alzheimer disease or immunodeficiency, and a contraceptive agent (or when a rebound effect after the drug withdrawal is used, a prophylactic/therapeutic agent against a infertility) and the like. In addition, it can be used as a prophylactic/therapeutic agent against a benign or malignant tumor which is sex hormone independent but is LH-RH sensitive.

Therefore, an administration of an effective dose of the present therapeutic/prophylactic agent to mammals can prevent/treat a sex hormone dependent diseases such as a hormone dependent disease, especially sex hormone dependent cancer (e.g., prostate cancer, uterine cancer, breast cancer, and pituitary tumor, etc.), prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, precocious puberty, dysmenorrhea, amenorrhea, premenstrual syndrome, and multilocular ovarian syndrome and the like, and can prevent conception, furthermore can prevent a premenopausal breast cancer postoperative recurrence.

The present invention is further described with referring to the following Examples and Comparative Examples, which are not intended to restrict the invention.

Examples

The weight-average molecular weight and the content of each polymer in the following Examples and Comparative Examples are a polystyrene-reduced weight-average molecular weight measured by gel-permeation chromatography (GPC) using a monodispersed polystyrene as a reference substance and a content of each polymer calculated from them. All measurements are performed with a high-speed GPC apparatus (HLC-8120GPC; Tosoh Corporation), using SuperH4000 x 2 and SuperH2000 (both Tosoh Corporation) as a column, and tetrahydrofuran as a mobile phase at a flow rate of 0.6 mL/min. The detection is conducted based on the differential refractive index.

A measuring method of a blood drug level includes the following methods. For leuprorelin acetate, for example, leuprorelin acetate and 125I-labeled leuprorelin acetate in a serum sample are competitively reacted with a rabbit anti-leuprorelin acetate serum. A goat anti-rabbit γ-globulin serum solution as a second antibody and a normal rabbit serum solution are added to the produced conjugate and reacted, and centrifuged followed by measuring a radioactivity of the precipitate. Leuprorelin acetate

concentration in the serum sample is obtained from a calibration curve produced at the same time.

In addition, "leuprorelin acetate" is referred to as "TAP-144" in the Figures.

Example 1

A solution of 3.83 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 14,300) in 6.4 g of dichloromethane was added to a solution prepared by adding 4.56 g of methanol to 0.96 g of freeze-dried powder of leuprorelin acetate, dissolving the powder with warming at about 50°C and then cooling to room temperature (25°C), and dispersed to prepare the oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20%. After the O phase was cooled to about 15°C, the solution was poured into 0.8 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 15°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected using a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 2,500 rpm). The collected microcapsules were re-dispersed

in distilled water. The microcapsules were precipitated and collected by repeating the same centrifuge operation, and then re-dispersed in a small amount of water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask together with 0.507 g of mannitol and frozen, then freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the mixed powder of the leuprorelin-containing microcapsules and mannitol (hereinafter referred to as "microcapsule powder").

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.3%, and the yield was about 63%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.0%. The term "the content of leuprorelin acetate in the microcapsule" as referred herein means a calculated rate in which the value calculated by multiplying the total of the charged weight of each raw material (leuprorelin acetate, lactic acid polymer and mannitol) by the yield (hereinafter referred to as "obtained amount"), followed by multiplying by "the content of leuprorelin acetate in the microcapsule powder" is divided by the value calculated by subtracting the amount of mannitol from the obtained amount, that is, it means the value calculated by the following formula:

Content (%) of leuprorelin acetate in the microcapsule

= [Total (g) of the charged weight of each raw material]x[Yield (%)]x[Content (%) of leuprorelin acetate

in the microcapsule powder]/[[Total (g) of the charged weight of each raw material]x[Yield (%)]-[Amount (g) of mannitol]]

wherein, [Total (g) of the charged weight of each raw material]x[Yield (%)]=[Obtained amount (g)],

and corresponds to the content of leuprorelin acetate as the physiologically active substance to the whole microcapsule (the same is applied hereinafter).

Example 2

The microcapsule powder was obtained in the same manner as Example 1 excepting that the temperature after the oil phase (O phase) was prepared and the temperature of 0.1% (w/w) aqueous solution of polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) were adjusted to about 20°C.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.1%, and the yield was about 64%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 17.8%.

Example 3

The microcapsule powder was obtained in the same manner as Example 1 excepting that the temperature after the oil phase (O phase) was prepared and the temperature of

0.1% (w/w) aqueous solution of polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) were adjusted to about 25°C.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 14.3%, and the yield was about 64%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 16.8%.

Example 4

The microcapsule powder was obtained in the same manner as Example 1 excepting that the temperature after the oil phase (O phase) was prepared and the temperature of 0.1% (w/w) aqueous solution of polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) were adjusted to about 30°C.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 13.4%, and the yield was about 67%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 15.6%.

Example 5

A solution of 119.5 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 14,100) in 200 g of dichloromethane was adjusted to 30 °C, and this solution was added to a solution which 142.5 g of methanol was added

to 30.0 g of leuprorelin acetate, dissolved with warming at about 40°C and then cooled to room temperature (25°C), and said mixture was dispersed to prepare the oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20%. Then, after the O phase was cooled to about 15°C, the solution was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 15°C, and was emulsified with HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, and flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 21.1 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 14%, and the yield was about 55%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule

was 18.1%.

Example 6

A solution of 119.5 g of DL-lactic acid polymer (the weight-average molecular weight: 14,100) in 200 g of dichloromethane was adjusted to 30 °C, and this solution was added into a solution which 142.5 g of methanol was added to 30.0 g of leuprorelin acetate, dissolved with warming at about 40°C and then cooled to room temperature (25°C), and said mixture was dispersed to prepare the oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20%. Then, after the O phase was cooled to about 20°C, the solution was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 20°C, and was emulsified with HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed

in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 95 μm, then, 17.2 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.0%, and the yield was about 76%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.5%.

Comparative Example 1

To 0.87 g of leuprorelin acetate, 1 g of distilled water was added to dissolve. To this solution was added a solution of 7.65 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 13,900) in 12.8 g of dichloromethane, and lightly dispersed by the hand, then primarily emulsified with Polytron (Kinematica) for about 30 seconds to prepare the W/O emulsion (rotation frequency: about 1,000 rpm). At this point, the loading amount of the drug is 10%. Then, after this W/O emulsion was cooled to about 15°C, the solution was poured into 1.6 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 15°C, and secondarily emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the W/O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm).

This W/O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected using a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 2,500 rpm). The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, added 0.9 g of mannitol and freeze-dried with freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 7.7%, and the yield was about 62%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 9.1%.

Comparative Example 2

A solution of 3.83 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 13,900) in 6.4 g of dichloromethane was added to a solution which 7.79 g of methanol was added to 1.64 g of the freeze-dried powder of leuprorelin acetate, dissolved with warming at about 50°C and then cooled to room temperature (25°C), and said mixture was dispersed to prepare the oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 30%. Then, the O phase was poured into 0.8 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 15°C,

and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 2,500 rpm). The collected microcapsules were re-dispersed in distilled water. The microcapsules were precipitated and collected by repeating the same centrifuge operation to collect them, and then re-dispersed in a small amount of water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask together with 0.578 g of mannitol and frozen, then freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.8%, and the yield was about 74%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.3%.

Comparative Example 3

A solution of 3.83 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 14.300) in 6.4 g of dichloromethane was added into a solution prepared by adding 9.80 g of methanol to 2.06 g of the freeze-dried powder of leuprorelin acetate, dissolving the powder with

warming at about 50°C and cooling to room temperature (25°C), and dispersed to prepare the oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 35%. Then, the O phase was poured into 0.8 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 15°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected using a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 2,500 rpm). The collected microcapsules were re-dispersed into distilled water. The microcapsules were precipitated by the centrifuge operation to collect them, and then re-dispersed into a small amount of water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask together with 0.623 g of mannitol and frozen, then freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.0%, and the yield was about 73%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 17.3%.

Experiment Example 1

Each 29 mg of the microcapsule powder prepared in Example 1 or 34 mg of the microcapsule powder prepared in Comparative Example 1 was suspended in about 0.4 mL of dispersal vehicle, and subcutaneously administered to a rat (4.5 mg dose calculated as leuprorelin acetate), then the leuprorelin acetate concentration in the serum was measured. The transition of blood concentration within 24 hours and up to 13 weeks after the administration is shown in Fig. 1. The calculated results of the maximum concentration (Cmax) and area under the blood concentration-time curve (AUC) within 24 hours after the administration and AUC (of onset part) from 24 hours to one month after the administration are shown in Table 1. As shown in Fig. 1 and Table 1, Cmax and AUC within 24 hours after the administration in Example 1 are lower, and the blood concentration and AUC of onset part are higher than those in Comparative Example 1. That is, a preparation using the O/W method can provide the suppression of the excessive drug release within 24 hours after the administration, and result in the great improvement of the transition of blood concentration on onset part.

Table 1

	Within 24 hours after the administration		From 24 hours to one month after the administration
	Cmax [ng/mL]	AUC [ng week/mL]	AUC [ng week/mL]
Example 1	115.5	4.0	23.1
Comparative Example 1	211.9	5.1	3.2

Experiment Example 2

Each entrapment ratio of leuprorelin acetate in the microcapsule powders prepared in Example 1, Comparative Example 2, or Comparative Example 3 was calculated. The results are shown in Table 2. The term "a entrapment ratio of leuprorelin acetate" as herein referred means a rate calculated by dividing "a content of leuprorelin acetate in the microcapsule" by "a loading amount of leuprorelin acetate". As shown in Table 2, the entrapment ratio was greatly reduced in the Comparative Examples wherein the loading amount was 30% or more.

Table 2

	Example 1	Comparative Example 2	Comparative Example 3
loading amount of leuprorelin acetate [%]	20	30	35
entrapment ratio of leuprorelin acetate [%]	90.0	64.3	49.4

Experiment Example 3

Each 29 mg of the microcapsule powder prepared in Example 1, 30 mg of the microcapsule powder prepared in Example 2, 32 mg of the microcapsule powder prepared in Example 3, or 34 mg of the microcapsule powder prepared in Example 4 was suspended in about 0.4 mL of the dispersal vehicle, and subcutaneously administered to a rat (4.5 mg dose calculated as leuprorelin acetate), then the leuprorelin acetate concentration in the serum was measured. The transition of blood concentration within 24 hours and up to 13 weeks after the administration is shown in Fig. 2. The result of the relationship between the emulsification temperature and Cmax within 24 hours after the administration is shown in Fig. 3, the result of the relationship between the emulsification temperature and AUC within 24 hours after the administration is shown in Fig. 4, and the result of the relationship between the emulsification temperature and AUC of the maintenance part (4 weeks or later after the administration) is shown in Fig. 5. As shown in Figs. 2, 3, and 4, Cmax and AUC within 24 hours after the administration was reduced depending on the emulsification temperature. That is, the raise the emulsification temperature can provide the suppression of initial excessive drug release after administration. Further, as shown in Figs. 2 and 5, the blood concentration level and AUC of the maintenance part were increased

depending on the emulsification temperature. That is, the raise the emulsification temperature can provide the improvement of the transition of blood concentration on the maintenance part.

Experiment Example 4

Each 32 mg of the microcapsule powder prepared in Example 5 or 28 mg of the microcapsule powder prepared in Example 6 was suspended in about 0.4 mL of the dispersal vehicle, and subcutaneously administered to a rat (4.5 mg dose calculated as leuprorelin acetate), then the leuprorelin acetate concentration in the serum was measured. The transition of blood concentration up to 13 weeks after the administration is shown in Fig. 6. The result of the relationship between the emulsification temperature and Cmax within 24 hours after the administration is shown in Fig. 3, the result of the relationship between the emulsification temperature and AUC within 24 hours after the administration is shown in Fig. 4, and the result of the relationship between the emulsification temperature and AUC of the maintenance part (4 weeks or later after the administration) is shown in Fig. 5. As shown in Figs. 3, 4, and 6, Cmax and AUC within 24 hours after the administration was reduced depending on the emulsification temperature. That is, the raise the emulsification

temperature can provide the initial excessive drug release after the administration. Further, as shown in Figs. 5 and 6, the blood concentration level and AUC of the maintenance part was increased depending on the emulsification temperature. That is, the raise the emulsification temperature can provide the improvement of the blood concentration transition on the maintenance part.

Experiment Example 5

Each microcapsule powder (45 mg calculated as leuprorelin acetate) prepared in Example 6 or Comparative Example 1 and the dispersing solvent (1 mL volume) was mixed, and lightly dispersed by the hand to homogeneously disperse. The time from the mixing was initiated until the mixture was uniformly dispersed was measured, respectively. The result is shown in Fig. 7. The mixture of Example 6 was dispersed in a shorter time than that of Comparative Example 1.

Comparative Example 4

To 2.4 g of leuprorelin acetate, 11.4 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 9.6 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,700) in 16.8 g of dichloromethane was

added, and dispersed to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20%. Then, the O phase was poured into 2 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, the mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 1.27 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.3%, and the yield was about 65%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 17.9%. The term "the content of leuprorelin acetate in the

microcapsule" as referred herein means a calculated rate in which the value calculated by multiplying the total of the charged weight of each raw material (leuprorelin acetate, lactic acid polymer and mannitol) by the yield (hereinafter referred to as "obtained amount"), followed by multiplying by "the content of leuprorelin acetate in the microcapsule powder" is divided by the value calculated by subtracting the amount of mannitol from the obtained amount, and corresponds to the content of leuprorelin acetate as the physiologically active substance to the whole microcapsule (same is applied hereinafter).

Comparative Example 5

To 1.2 g of leuprorelin acetate, 5.7 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.8 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 26,100) in 8.4 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 19%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion

(turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). The O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 14.7%, and the yield was about 54%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 17.9%.

Comparative Example 6

To 1.35 g of leuprorelin acetate, 6.41 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.65 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,700) in 8.14 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to

prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare a O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). The O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then the mixture was centrifuged again to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added thereto, and the mixture was dispersed in a small amount of distilled water. The dispersion was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.8%, and the yield was about 55%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 20.3%.

Example 7

To 1.14 g of leuprorelin acetate and 0.269 g of stearic acid, 5.7 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.53 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,700) in 7.93 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 19%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was

frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.4%, and the yield was about 57%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.5%. The term "the content of leuprorelin acetate in the microcapsule" as herein referred means a calculated rate in which the value calculated by multiplying the total of the charged weight of each raw material (leuprorelin acetate, lactic acid polymer, stearic acid and mannitol) by the yield (hereinafter referred to as "obtained amount"), followed by multiplying by "the content of leuprorelin acetate in the microcapsule powder" is divided by the value calculated by subtracting the amount of mannitol from the obtained amount, and corresponds to the content of leuprorelin acetate as the physiologically active substance to the whole microcapsule (the same is applied hereinafter).

Example 8

To 1.14 g of leuprorelin acetate and 0.269 g of stearic acid, 5.7 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.53 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 26,100) in

7.93 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 19%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then said mixture was recentrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 14.7%, and the yield was about 56%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 17.8%.

Example 9

To 1.29 g of leuprorelin acetate and 0.3025 g of stearic acid, 6.413 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.347 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,700) in 7.608 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 21.7%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said

mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 17.1%, and the yield was about 58%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 20.5%.

Example 10

To 1.29 g of leuprorelin acetate and 0.3025 g of stearic acid, 6.413 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.347 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 26,100) in 7.608 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 21.7%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the

microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.2%, and the yield was about 59%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.2%.

Example 11

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 0.079 g of stearic acid (0.25-fold mole of leuprorelin acetate), 6.4 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.57 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 8.0 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, the O phase

was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 18.1%, and the yield was about 68%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 21.1%.

Example 12

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 0.157 g of

stearic acid (0.5-fold mole of leuprorelin acetate), 6.4 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.5 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.9 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, the said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H,

ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 17.5%, and the yield was about 56%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 21.1%.

Example 13

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 0.315 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 6.4 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.34 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.6 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL;

Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.7%, and the yield was about 52%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 20.5%.

Example 14

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 0.471 g of stearic acid (1.5-fold mole of leuprorelin acetate), 6.4 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.19 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.34 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w)

polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 17.1%, and the yield was about 73%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.7%.

Example 15

To 1.23 g of leuprorelin acetate and 0.287 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 5.8 g of

methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.49 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.9 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.8%, and the yield was about 66%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.5%.

Example 16

To 1.29 g of leuprorelin acetate and 0.300 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 6.1 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.42 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.7 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 21.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm).

Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.9%, and the yield was about 56%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.2%.

Example 17

To 1.41 g of leuprorelin acetate and 0.328 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 6.7 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.27 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.5 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 23.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical

Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 17.0%, and the yield was about 71%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.6%.

Example 18

To 1.47 g of leuprorelin acetate and 0.342 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 7.0 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C,

then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 4.20 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 7.4 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 24.5%. Then, the O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) of polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). Distilled water was added to the microcapsules to wash, then, said mixture was re-centrifuged to precipitate the microcapsules. After the supernatant was removed, 0.635 g of mannitol was added to this mixture to disperse in a small amount of distilled water, and said mixture was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder.

The content of leuprorelin acetate in the obtained

microcapsule powder was 16.3%, and the yield was about 77%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.6%.

Example 19

To 33.75 g of leuprorelin acetate and 7.56 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 160.33 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 108.68 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 190.2 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. Then, after the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki;

rotation frequency: about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 17.2 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 18.2%, and the yield was about 80%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 20.9%.

Example 20

To 30.0 g of leuprorelin acetate and 6.725 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 142.5 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 113.28 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 198.23 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20.0%. Then, after the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co.,

Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 17.2 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.6%, and the yield was about 80%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.0%.

Example 21

To 22.68 g of leuprorelin acetate and 5.08 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate), 107.7 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this

solution, a solution of 80.24 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 26,100) in 140.4 g of dichloromethane was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 21.0%. Then, after the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 18 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 13.3 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 16.5%, and the yield was about 73%. From the results, it was found

that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 19.4%.

Example 22

To 31.5 g of leuprorelin acetate, 130.08 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 111.44 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 26,300) and 7.06 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate) in the mixture of 195.0 g of dichloromethane and 19.50 g of methanol was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 21.0%. After the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency:

about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 17.2 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 17.5%, and the yield was about 78%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 20.2%.

Example 23

To 33.75 g of leuprorelin acetate, 141.31 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 108.68 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 22,100) and 7.56 g of stearic acid (1-fold mole of leuprorelin acetate) in the mixture of 190.2 g of dichloromethane and 19.02 g of methanol was added, and to blend with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. After the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to

about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare the O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm.). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, and the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were re-dispersed in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm, then, 17.2 g of mannitol was added and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 18.4%, and the yield was about 77%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 21.2%.

Example 24

To 30 g of leuprorelin acetate, 122.68 g of methanol was added to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution, a solution of 113.28 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 22,100) and 6.725 g of stearic

acid (1-fold mole of leuprorelin acetate) in the mixture of 198.2 g of dichloromethane and 19.82 g of methanol was added, and mixed with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 20%. After the O phase was adjusted to about 30°C, the O phase was poured into 25 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare an O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm, and the circulating pump rotation frequency: about 2,000 rpm). This O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were continuously precipitated with a centrifuge (H-600S; Kokusan Enshinki; rotation frequency: about 2,000 rpm, the flow rate: about 600 ml/min) and collected. The collected microcapsules were dispersed again in a small amount of distilled water, and sieved through a sieve having an opening of 90 μm. Then, 19.9 g of mannitol was added thereto, and freeze-dried with freeze drier (DFM-05A-S, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 15.4%, and the yield was about 66%. From the results, it was found that the content of

leuprorelin acetate in the microcapsule was 18.7%.

Example 25

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 0.907 g of stearic acid (3-fold mole of leuprorelin acetate) was added 6.4 g of methanol to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution was added a solution of 3.74 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 6.5 g of dichloromethane, and mixed with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. This O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare an O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). The O/W emulsion was in-water dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μ m, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). To the microcapsules was added distilled water to wash, and was centrifuged again to precipitate. After removing the supernatant, 0.635 g of mannitol was added thereto, and the

mixture was dispersed with a small amount of distilled water. The dispersion was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 9.6%, and the yield was about 44%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 12.2%.

Example 26

To 1.35 g of leuprorelin acetate and 1.513 g of stearic acid (5-fold mole of leuprorelin acetate) was added 6.4 g of methanol to dissolve with warming at about 40°C, then this solution was adjusted to 30°C. To this solution was added a solution of 3.14 g of DL-lactic acid polymer (weight-average molecular weight: 21,800) in 5.5 g of dichloromethane, and mixed with stirring to prepare a homogeneous oil phase (O phase). At this point, the loading amount of the drug is 22.5%. This O phase was poured into 1 L of an aqueous solution of 0.1% (w/w) polyvinyl alcohol (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) pre-adjusted to about 18°C, and was emulsified with a homomixer (Tokushu Kika Kogyo Corporation) to prepare an O/W emulsion (turbine rotation frequency: about 7,000 rpm). The O/W emulsion was in-water

amount of stearic acid and a loading dose of the drug can provide the control of the release rate on onset part (from 24 hours to 1 month after the administration) and the achievement of the ideal blood concentration pattern.

Experiment Example 8

The entrapment ratios of leuprorelin acetate in the microcapsule powders prepared in Example 15, Example 16, Example 13, Example 17 and Example 18 were calculated, respectively. The results are shown in Table 3. The term "a entrapment ratio of leuprorelin acetate" as herein referred means a rate calculated by dividing "a content of leuprorelin acetate in the microcapsule" by "a loading amount of leuprorelin acetate". As shown in Table 3, a slightly decreasing tendency of the entrapment ratio was observed after the loading amount exceeded 23.5%.

Table 3

	Example 15	Example 16	Example 13	Example 17	Example 18
Mole ratio of added stearic acid to leuprorelin acetate	1	1	1	1	1
Loading amount of leuprorelin acetate [%]	20.5	21.5	22.5	23.5	24.5

entrapment ratio of leuprorelin acetate [%]	90.2	89.3	91.0	83.7	76.1

Experiment Example 9

The entrapment ratios of leuprorelin acetate in the microcapsule powders prepared in Comparative Example 4, Example 11, Example 12, Example 13, Example 14, Example 25 and Example 26 were calculated, respectively. The results are shown in Table 4. A decreasing tendency of entrapment ratio was observed after the mole ratio of the added stearic acid to leuprorelin acetate exceeded 1.5.

Table 4

	Comparative Example 4	Example 11	Example 12	Example 13	Example 14	Example 25	Example 26
Mole ratio of added stearic acid to leuprorelin acetate	0	0.25	0.5	1.0	1.5	3.0	5.0
Loading amount of leuprorelin acetate [%]	22.5	22.5	22.5	22.5	22.5	22.5	22.5
Entrapment ratio of leuprorelin acetate [%]	90.4	93.6	93.9	91.0	87.6	54.1	28.8

dried for about 3 hours, and sieved through a sieve having an opening of 75 μm, then, the microcapsules were precipitated and collected with a centrifuge (CR5DL; Hitachi, Ltd.; rotation frequency: about 3,000 rpm). To the microcapsules was added distilled water to wash, and was centrifuged again to precipitate. After removing the supernatant, 0.635 g of mannitol was added thereto, and the mixture was dispersed with a small amount of distilled water. The dispersion was recovered in an eggplant-shaped flask. This dispersion was frozen, and freeze-dried with a freeze drier (DF-01H, ULVAC) to obtain the microcapsule powder. The content of leuprorelin acetate in the obtained microcapsule powder was 5.3%, and the yield was about 53%. From the results, it was found that the content of leuprorelin acetate in the microcapsule was 6.5%.

Experiment Example 6

Each 59 mg of the microcapsule powder prepared in Comparative Example 4 or 59 mg of the microcapsule powder prepared in Example 7 was suspended in about 0.4 mL of the dispersal vehicle, and subcutaneously administered to a rat (9 mg dose calculated as leuprorelin acetate), then the leuprorelin acetate concentrations in the serum were measured. The transition of blood concentration is shown in Fig. 8. For the period from 1 week to 10 weeks after

the administration, the blood concentration level of Example 7 was greatly higher than that of Comparative Example 2. That is, an addition of stearic acid can result in the improvement of the release rate of the drug, and can provide the improvement of the blood concentration levels on onset part (from 24 hours to 1 month after the administration) and maintenance part (1 month or later after the administration).

Experiment Example 7

Each 61 mg of the microcapsule powder prepared in Comparative Example 5, 61 mg of the microcapsule powder prepared in Example 8, or 59 mg of the microcapsule powder prepared in Example 10 was suspended in about 0.4 mL of the dispersal vehicle, and subcutaneously administered to a rat (9 mg dose calculated as leuprorelin acetate), then the leuprorelin acetate concentrations in the serum were measured. The transition of blood concentration is shown in Fig. 9. In the period 4 weeks after the administration, the blood concentration level of Example 8 and Example 10 was greatly higher than that of Comparative Example 3. Additionally, in the hollow-section in second day after the administration observed in Example 8, Example 10 maintained the high level, and showed more favorable blood concentration pattern. That is, a control of an additive

Experiment Example 10

59 mg of the microcapsule powder prepared in Comparative Example 4, 54 mg of the microcapsule powder prepared in Comparative Example 6, 50 mg of the microcapsule powder prepared in Example 19, 54 mg of the microcapsule powder prepared in Example 20 and 55 mg of the microcapsule powder prepared in Example 21 were suspended in about 0.4 mL of dispersal vehicle, respectively, and subcutaneously administered to a rat (9 mg dose as leuprorelin acetate, respectively), then the leuprorelin acetate concentrations in the serum were measured. The results of the maximum blood level (Cmax) and AUC within 24 hours after the administration, AUC from 24-hour to one month after the administration (onset part) and serum concentration of the sixth month after the administration are shown in Table 5. As seen from Table 5, the preparation of Examples 19, 20 and 21 wherein the loading amount of the drug is about 20 to 22.5% and stearic acid is contained had a high blood level and AUC for the onset part, compared to the preparation of Comparative Examples 4 and 6 wherein the loading amount of the drug is about 20 to 22.5% and stearic acid is not contained. On the other hand, the drug was detected from blood even at 6 months after the administration, and it is confirmed that the drug is being

released over a long period of time. That is, the transition of blood level in onset part could be improved significantly by containing stearic acid.

Table 5

	within 24 hours after the administration		24-hour to one month after the administration	sixth month after the administration
	Cmax [ng/mL]	AUC [ng week/mL]	AUC [ng week/mL]	serum concentration [ng/mL]
Comparative Example 4	49.07	0.67	1.71	1.02
Comparative Example 6	129.97	1.56	2.30	1.17
Example 19	220.65	3.48	15.01	0.39
Example 20	132.63	1.95	7.06	0.84
Example 21	268.50	4.43	19.77	0.35

Industrial Applicability

The sustained-release composition of the present invention can contain a high content of a physiologically active substance and suppress the initial excessive release thereof and enable a long-term stable release rate.

That is, the suppression of the initial excessive release of the physiologically active peptide and the stable release of the drug on onset part after administration can be achieved, additionally, the sustained-release composition of the present invention can stably sustained-release the physiologically active substance for a long period from about 60 to 400 days after the administration at the effective blood concentration.

Additionally, since a content of a physiologically active substance in the preparation is higher than that of the conventional preparation, a volume and weight of whole sustained-release preparation needed per unit dose of the active ingredient can be reduced. Thereby, the physical burden can be relieved in patients such as a pain at the time of administration and an induration after administration considered due to administration of a preparation having a large unit volume.

CLAIMS

1. A sustained-release composition in which a physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide is substantially uniformly dispersed in a microcapsule comprised of a lactic acid polymer or a salt thereof, wherein a physiologically active substance is contained in an amount of 15 to 35 (weight/weight)% to the total microcapsules, and weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,000 to about 27,000.

2. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is any one selected from:

(i) about 11,600 to about 20,000 and

(ii) about 19,000 to about 27,000.

3. The sustained-release composition according to claim 2 wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which comprises maintaining an effective drug blood level over a period of about 60 days to 130 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition.

4. The sustained-release composition according to claim 2 wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000,

which comprises maintaining an effective drug blood level over a period of about 120 days to 400 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition.

5. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the physiologically active substance is a LH-RH derivative.

6. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the physiologically active substance is a peptide of formula:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

wherein, Y represents DLeu, DAla, DTrp, DSer (tBu), D2Nal or DHis (ImBzl) and Z represents $NH-C_2H_5$ or $Gly-NH_2$, or a salt thereof.

7. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the physiologically active substance is a peptide of formula:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-$NH-C_2H_5$

or an acetate thereof.

8. The sustained-release composition according to claim 1, characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules.

9. The sustained-release composition according to claim 1 which is obtained by dissolving the lactic acid polymer or

the salt thereof in a volatile water-immiscible first solvent to prepare a first solution,

dissolving the physiologically active substance comprised of the water-soluble physiologically active peptide in a water-miscible second solvent to prepare a second solution,

mixing the resultant first solution and the resultant second solution to prepare a third solution in which the lactic acid polymer or the salt thereof and the physiologically active substance are uniformly dissolved,

dispersing the resultant third solution in a fourth solution comprised of an aqueous solution of an emulsifier to prepare an O/W emulsion, and

removing the first solvent and the second solvent from the generated microcapsule.

10. The sustained-release composition according claim 9, characterized in that a mixed solvent in which a water-miscible third solvent is further added to the first solvent is used as a solvent for dissolving the lactic acid polymer or the salt thereof in the preparation of the first solution.

11. The sustained-release composition according to claim 9, characterized in that a controlled temperature of the emulsifying step is adjusted to about 15 to about 35°C in the step of removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule.

12. The sustained-release composition according claim 11, characterized in that the temperature control of the emulsifying step is performed by adjusting the temperature of the O/W emulsion to about 15 to 35°C.

13. The sustained-release composition according to claim 9, wherein the respective temperatures of the third solution and the fourth solution in the preparation of the O/W emulsion are about 15 to about 35°C.

14. The sustained-release composition according to claim 9, characterized in that the step of removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule is performed by an in-water drying method.

15. The sustained-release composition according to claim 9, wherein the first solvent is dichloromethane.

16. The sustained-release composition according to claim 9, wherein the second solvent and/or the third solvent is a lower alcohol.

17. The sustained-release composition according to claim 16, wherein the lower alcohol is methanol, ethanol, or propanol.

18. The sustained-release composition according to claim 9, characterized in that a volume ratio of the water-immiscible solvent and the water-miscible solvent in the third solution is 35:65 to 55:45.

19. The sustained-release composition according to claim 9,

characterized in that a polymer concentration in the first solution is about 33 to 45% by weight.

20. The sustained-release composition according to claim 9, characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 17 to 50% by weight.

21. The sustained-release composition according to claim 9, characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules.

22. The sustained-release composition according to claim 21, characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 19 to 38% by weight.

23. The sustained-release composition according to claim 21, characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 20 to 23% by weight.

24. The sustained-release composition according to claim 1, characterized in that the sustained-release composition further contains a fatty acid.

25. The sustained-release composition according to claim 24, wherein the fatty acid is at least one selected from stearic acid, benzoic acid, hydroxynaphthoic acid, and pamoic acid.

26. The sustained-release composition according to claim 24, characterized in that a ratio of the fatty acid to the total microcapsules is about 0.01 to about 50% by weight.

27. The sustained-release composition according to claim 24, characterized in that an amount of the fatty acid to be added is 0.1 to 10 moles relative to one mole of the water-soluble physiologically active peptide or the salt thereof.

28. The sustained-release composition according to claim 1, which is characterized by being easily dispersible in a disperse medium.

29. The sustained-release composition according to claim 28, which is characterized by being stable for 24 hours or more after dispersion in the disperse medium.

30. The sustained-release composition according to claim 2 wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.9.

31. The sustained-release composition according to claim 2 wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that a ratio of the weight-average molecular weight (Mw) to the number-average molecular weight (Mn) is more than 1.5.

32. The sustained-release composition according to claim 1, characterized in that the lactic acid polymer is polylactic acid or polylactide.

33. The sustained-release composition according to claim 1, characterized in that the lactic acid polymer is poly-DL-lactic acid or poly-DL-lactide.

34. The sustained-release composition according to claim 1, characterized in that the lactic acid polymer is a lactic acid-glycolic acid polymer.

35. The sustained-release composition according to claim 34, characterized in that a composition ratio of lactic acid/glycolic acid in the lactic acid-glycolic acid polymer is 60/40 to 99.9/0.1.

36. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of 5,000 or less whose content is about 5.0% by weight or less.

37. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of 3,000 or less whose content is about 1.5% by weight or less.

38. The sustained-release composition according to claim 1, wherein the lactic acid polymer is a polymer containing a polymer having a molecular weight of 1,000 or less whose content is about 0.1% by weight or less.

39. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 12,000 to 19,000.

40. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 13,000 to 18,000.

41. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is 19,500 to 26,500.

42. A process for preparation of a sustained-release composition of a microcapsule containing a physiologically active substance at 15 to 35% by weight to the whole microcapsules, comprising steps of:

(i) dissolving a lactic acid polymer or a salt thereof in a volatile water-immiscible first solvent to prepare a first solution,

(ii) dissolving the physiologically active substance comprised of a water-soluble physiologically active peptide in a water-miscible second solvent to prepare a second

solution,

(iii) mixing the resultant first solution and the resultant second solution to prepare a third solution in which the lactic acid polymer or the salt thereof and the physiologically active substance are uniformly dissolved,

(iv) dispersing the resultant third solution in a fourth solution comprised of an aqueous solution of a surfactant to prepare an O/W emulsion, and

(v) removing the first solvent and the second solvent from the microcapsule by an in-water drying method at a controlled temperature of about 15 to about 35°C.

43. The process according to claim 42, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 11,600 to about 20,000.

44. The process according to claim 42, wherein the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is about 19,000 to about 27,000.

45. The process according to claim 42, characterized in that a mixed solvent in which a water-miscible third solvent is further added to the first solvent is used as a solvent for dissolving the lactic acid polymer or the salt thereof in the step (i).

46. The process according to claim 42, characterized in that the respective temperatures of the third solution and the fourth solution in the preparation of the O/W emulsion

are adjusted to about 15 to about 35°C.

47. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized in that a fatty acid or a salt thereof is further added to the first solution and/or the second solution or the third solution.

48. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized in that a fatty acid or a salt thereof is dissolved in the second solution.

49. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 17 to 50% by weight.

50. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized in that a content of the contained physiologically active substance is 17 to 26 (weight/weight)% to the total microcapsules.

51. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 50, which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 19 to 38% by weight.

52. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 50, which is characterized in that a loading amount of the physiologically active substance in the preparation of the third solution is 20 to 23% by weight.

53. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized by maintaining an effective drug blood level over a period of about 60 days to 130 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition.

54. The process for the preparation of a sustained-release composition according to claim 42, which is characterized by maintaining an effective drug blood level over a period of about 120 days to 400 days by in vivo release of the physiologically active substance from the sustained-release composition.

55. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration is 2 to 50.

56. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from one month to three months after the administration is 20 to 350.

57. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 3% to 30% of the whole AUC.

58. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration calculated from the blood concentration is 40% to 80% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile.

59. The sustained-release composition according to claim 2

in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (i) about 11,600 to about 20,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from one month to three months after the administration is 10% to 35% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile.

60. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that a ratio of a maximum blood concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration is 10 to 90.

61. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that a ratio of a blood maximum concentration of an active ingredient within 24 hours after the administration to an average blood concentration of the active ingredient for a period from one month to six months after the administration is 20 to 500.

62. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the

lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient within 24 hours after the administration calculated from the blood concentration is 1% to 20% of the whole AUC.

63. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized in that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from 24 hours to one month after the administration calculated from the blood concentration is 10% to 50% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile.

64. The sustained-release composition according to claim 2 in which the weight-average molecular weight (Mw) of the lactic acid polymer is (ii) about 19,000 to about 27,000, which is characterized by that area under the blood concentration-time curve (AUC) of an active ingredient for a period from one month to six months after the administration is 40% to 90% of the whole AUC, and has an excellent sustained-release profile.

65. A pharmaceutical composition comprising the sustained-release composition according to claim 1.

66. A prophylactic or therapeutic agent for prostate

cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea, or breast cancer, or a contraceptive agent, comprising the sustained-release composition according to claim 1.

67. A prophylactic agent for premenopausal breast cancer postoperative recurrence, comprising the sustained-release composition according to claim 1.

68. A method for preventing or treating prostate cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea, or breast cancer, or a method of contraception, comprising administering an effective amount of the sustained-release composition according to claim 1 to a mammal.

69. A method for preventing premenopausal breast cancer postoperative recurrence, comprising administering an effective amount of the sustained-release composition according to claim 1 to a mammal.

70. The method according to claim 68 or claim 69, characterized in that the sustained-release composition is prepared by the method according to any one of claims 42 to 54.

71. Use of the sustained-release composition according to claim 1 for the manufacture of a prophylactic or therapeutic agent for prostate cancer, prostatic hyperplasia, endometriosis, uterine fibroid, uterine

fibroma, precocious puberty, dysmenorrhea or breast cancer, or a contraceptive agent.

72. Use of the sustained-release composition according to claim 1 for the manufacture of a prophylactic agent for premenopausal breast cancer postoperative recurrence.

Fig. 1

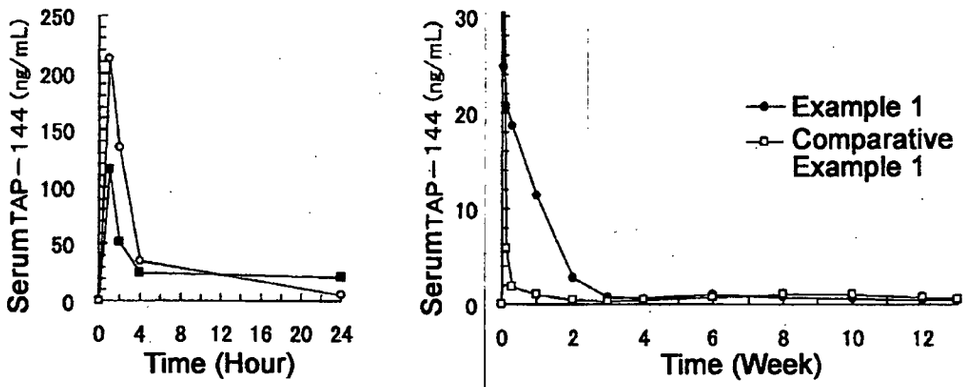

Serum TAP-144 (ng/mL)
250
200
150
100
50
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Hour)
Serum TAP-144 (ng/mL)
30
20
10
0
0 2 4 6 8 10 12
Time (Week)
Example 1
Comparative Example 1

Fig. 2

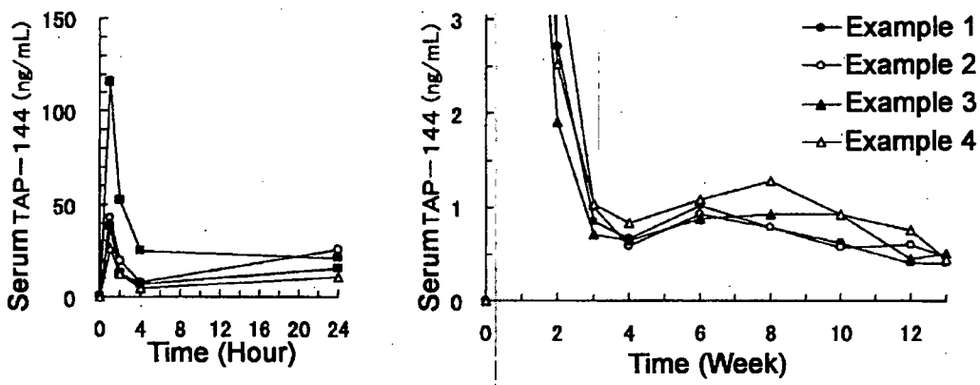

Serum TAP-144 (ng/mL)
150
100
50
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Hour)
Serum TAP-144 (ng/mL)
3
2
1
0
0 2 4 6 8 10 12
Time (Week)
Example 1
Example 2
Example 3
Example 4

Fig. 3

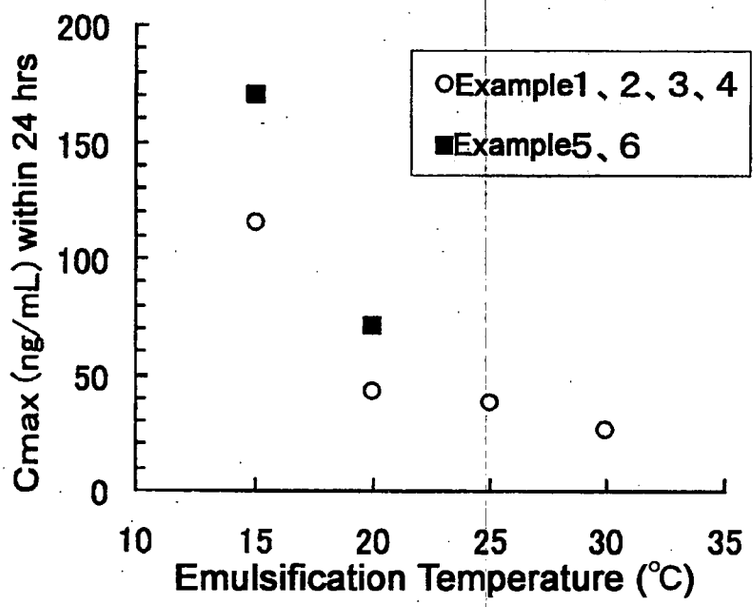

Cmax (ng/mL) within 24 hrs
200
150
100
50
0
10
15
20
25
30
35
Emulsification Temperature (℃)
○Example1、2、3、4
■Example5、6

Fig. 4

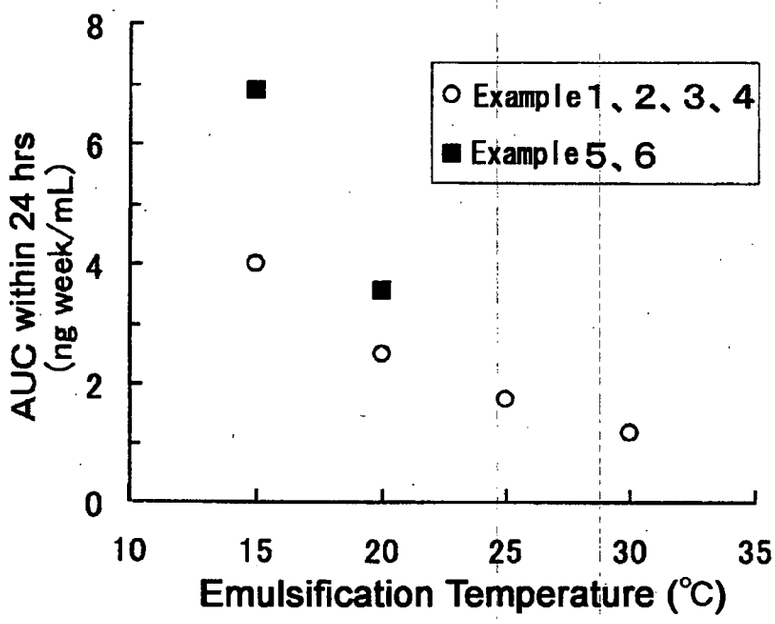

AUC within 24 hrs
(ng week/mL)
8
6
4
2
0
10
15
20
25
30
35
Emulsification Temperature (℃)
○ Example1、2、3、4
■ Example5、6

Fig. 5

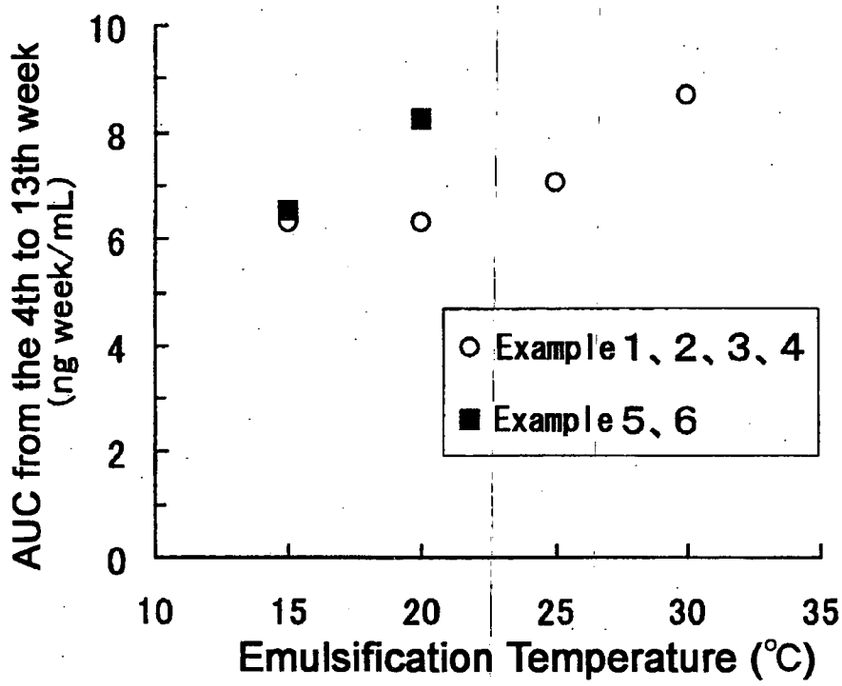
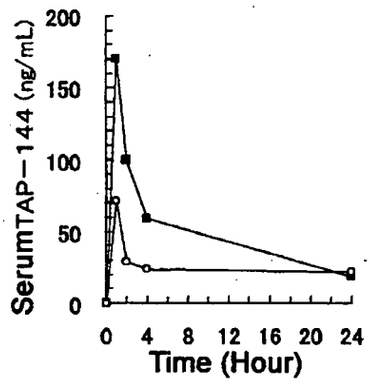

AUC from the 4th to 13th week
(ng week/mL)
10
8
6
4
2
0
10
15
20
25
30
35
Emulsification Temperature (℃)
Example 1、2、3、4
Example 5、6

Fig. 6


SerumTAP-144 (ng/mL)
200
150
100
50
0
0
4
8
12
16
20
24
Time (Hour)

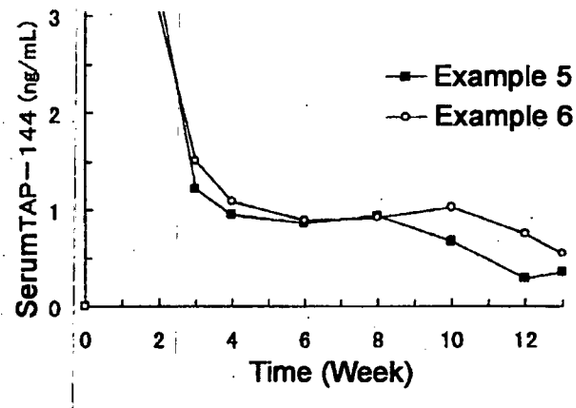

SerumTAP-144 (ng/mL)
3
2
1
0
0
2
4
6
8
10
12
Time (Week)
Example 5
Example 6

Fig. 7

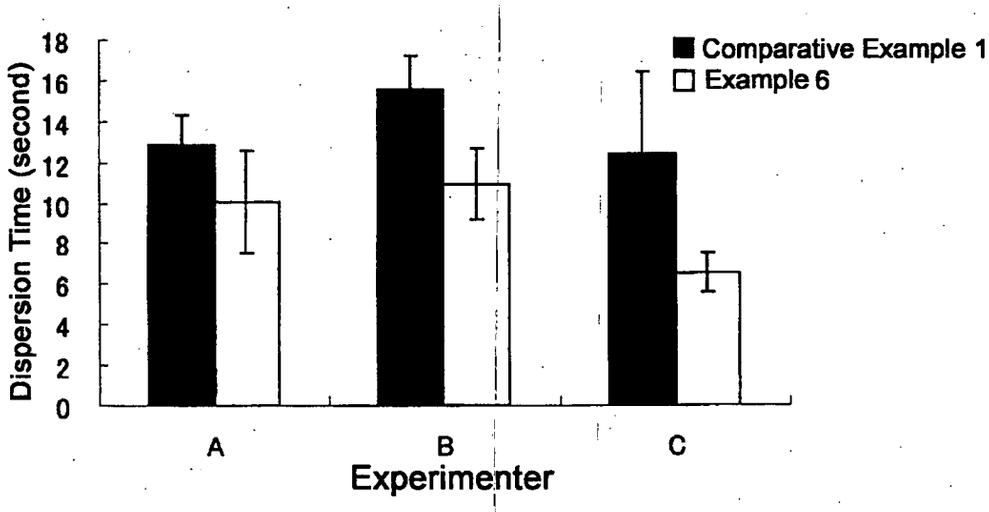

Dispersion Time (second)
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
A
B
C
Experimenter
Comparative Example 1
Example 6

Fig. 8

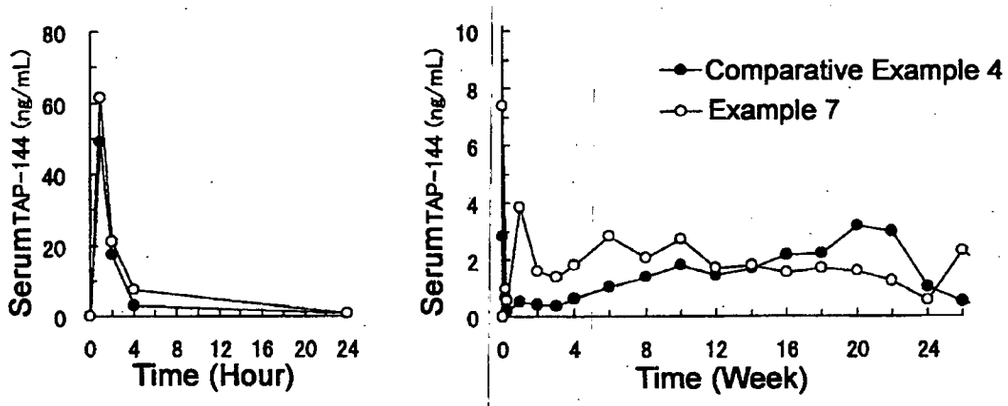
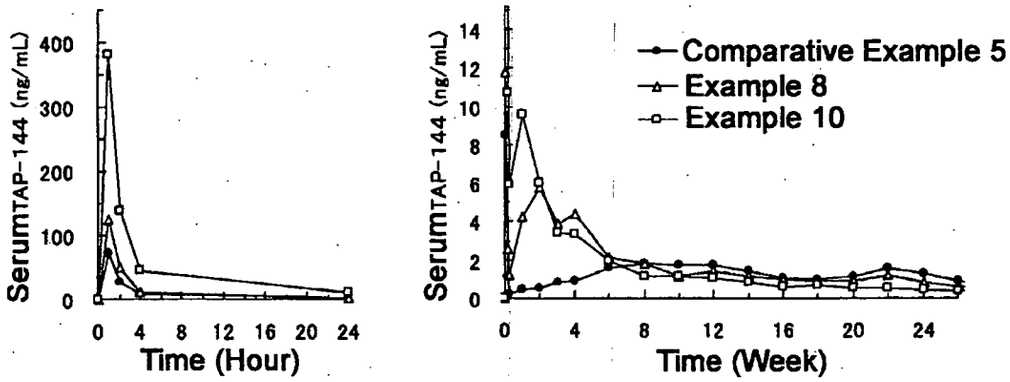

Serum TAP-144 (ng/mL)
80
60
40
20
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Hour)
Serum TAP-144 (ng/mL)
10
8
6
4
2
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Week)
Comparative Example 4
Example 7

Fig. 9


SerumTAP-144 (ng/mL)
400
300
200
100
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Hour)
SerumTAP-144 (ng/mL)
14
12
10
8
6
4
2
0
0 4 8 12 16 20 24
Time (Week)
Comparative Example 5
Example 8
Example 10

121478

DESCRIPCIÓN

COMPOSICIÓN DE LIBERACIÓN SOSTENIDA Y MÉTODO PARA PRODUCIRLA

Campo técnico

La presente invención se refiere a una preparación de liberación sostenida de una sustancia fisiológicamente activa, un método para producirla y un uso como medicamento y similares.

Antecedentes Técnicos

Como técnica convencional, por ejemplo, la patente japonesa No. 3116311 divulga una preparación de liberación sostenida en microesferas compuesta de un fármaco soluble en agua tal como un péptido fisiológicamente activo y un ácido poliláctico y un método para producirla, allí se describe un método que comprende disolver un fármaco soluble en agua tal como un péptido fisiológicamente activo y un polímero biodegradable en un solvente mezcla de un solvente inmiscible en agua tal como diclorometano y un solvente miscible en agua tal como etanol, y agregar la solución en agua, etc., para producir una emulsión de aceite en agua O(fase oleosa/A(fase acuosa)(O/W), seguido por la exposición a un método de secado en agua para preparar una microcápsula de liberación sostenida. Además, la patente japonesa No. 3512408 divulga micropartículas microesféricas que comprenden un péptido fisiológicamente activo soluble en agua y un ácido poliláctico o un copolímero de ácido láctico y ácido glicólico, donde dinámica en donde se controla de la liberación del fármaco; y como método para la preparación de

la micropartícula, se describe un método que comprende disolver un polímero en un solvente volátil e inmiscible en agua, mezclar una solución preparada en forma separada por la disolución de un péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un solvente miscible en agua con la solución polimérica anterior, y emulsionar la solución resultante en una fase acuosa que contiene un emulsificante, seguido por la eliminación del solvente de la emulsión O/A obtenida para preparar las micropartículas microesféricas. Sin embargo, el contenido de fármaco de cada una de las preparaciones de liberación sostenida es aproximadamente 10% o aproximadamente 0,1 a 5%, y no está descrita una preparación de liberación sostenida capaz de liberar el fármaco en forma sostenida durante aproximadamente dos meses.

Además, Pharmaceutical Research, Vol. 19, N.° 4 (abril, 2002) divulga una preparación de liberación sostenida en microesferas compuesta de acetato de leuprolida y ácido poliláctico y como un proceso para la obtención de la preparación, se describe un método que comprende mezclar una solución de leuprolida en metanol y una solución de ácido poliláctico en diclorometano y esta mezcla en solución se dispersa en una solución acuosa de alcohol polivinílico seguida por la eliminación del solvente orgánico para obtener la preparación de liberación sostenida en microesferas. La preparación tiene la característica de liberar el fármaco durante un período de 180 a 240 días. No obstante, la liberación de fármaco es pequeña en cantidad en el primer o segundo mes a partir del primer período de administración

después de la descarga inicial y la preparación muestra una típica liberación del fármaco en tres fases.

Divulgación de la invención

La presente invención está destinada a proporcionar una nueva composición que tiene una sustancia fisiológicamente activa en alto contenido y es capaz de lograr una tasa de liberación estable durante un período largo de tiempo por la supresión de la liberación excesiva inicial dentro del día posterior ala administración, y obtener una liberación de fármaco estable desde la parte inicial de un día hasta aproximadamente un mes después de la administración, y al método para producir la composición.

Asimismo, la presente invención está destinada a proporcionar una preparación de liberación sostenida que estabiliza la concentración del fármaco en sangre durante un período largo por la liberación estable del fármaco descrito anteriormente durante un período largo de tiempo.

Además, la presente invención está destinada a proporcionar una preparación de liberación sostenida en la cual el volumen o peso total de la preparación de liberación sostenida necesaria por dosis unitaria del componente activo se reduce por aumento, a una cantidad elevada, del contenido de la sustancia fisiológicamente activa para la preparación , es decir, aumentar el contenido de la sustancia fisiológicamente activa por unidad de volumen de la preparación de liberación sostenida.

Además, la presente invención está destinada a proporcionar una preparación de liberación sostenida con la

cual las molestias físicas de los pacientes, que se cree son causadas por la administración de una preparación que presenta un volumen unitario abultado, tal como dolor en el momento de la administración y el endurecimiento después de la administración se reducen con la preparación que tiene el contenido elevado del fármaco mencionado anteriormente.

Además, la presente invención puede lograr al mismo tiempo los objetivos contradictorios de una reducción de las molestias físicas en el momento de la administración y una reducción las molestias ambulatorias por disminución de la frecuencia de administración con la preparación anteriormente descrita en la que se obtienen al mismo tiempo tanto una liberación sostenida estable durante un largo período de tiempo como una elevación de contenido del fármaco.

Los presentes inventores han investigado exhaustivamente en vista de las circunstancias anteriormente mencionadas y, como resultado, han hallado que una preparación de liberación sostenida compuesta de una combinación específica o de una composición específica y obtenida por un proceso específico para la preparación mantiene la liberación excesiva inicial dentro del día después de la administración en un nivel extremadamente bajo y exhibe rasgos característicos de liberación de fármaco ideales en la parte inicial a partir de un día hasta aproximadamente un mes después de la administración a un paciente, y por el uso de la presente preparación de liberación sostenida, se puede obtener una transición del nivel de fármaco en sangre extremadamente estable durante un período largo de tiempo debido a la

167
171

inhibición de la liberación excesiva inicial dentro del día después de la administración y la tasa de liberación estable a largo plazo por la dinámica de liberación ideal en la parte del comienzo además de, inesperadamente, tener la capacidad de incorporar la sustancia fisiológicamente activa en un alto contenido.

Como resultado de un estudio adicional sobre la base de este conocimiento los inventores han completado la presente invención.

Es decir, la presente invención proporciona:

(1) Una composición de liberación sostenida en la que una sustancia fisiológicamente activa compuesta de un péptido fisiológicamente activo soluble en agua se dispersa en forma sustancialmente uniforme en una microcápsula compuesta de un polímero de ácido láctico o una sal de este, donde dicha sustancia fisiológicamente activa está contenida en una cantidad de 15 a 35% (peso/peso) respecto alas microcápsulas totales y el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.000 hasta aproximadamente27.000;

(2) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es alguno seleccionado entre:

(i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 y

(ii) aproximadamente de 19.000a aproximadamente 27.000;

(3) La composición de liberación sostenida de acuerdo

1605
172

con la anteriormente mencionada (2) en donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, lo cual comprende mantener un nivel efectivo de fármaco en la sangre durante un período aproximado de 60 días a 130 días por la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa a partir de la composición de liberación sostenida;

(4) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) de aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, lo cual comprende mantener un nivel efectivo de fármaco en la sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días por la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa a partir de la composición de liberación sostenida;

(5) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), en donde la sustancia fisiológicamente activa es un derivado de LH-RH;

(6) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), en donde la sustancia fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

donde, Y representa DLeu, DAla, DTrp, DSer (tBu), D2Nal o DHis (ImBzl) y Z representa NH-C_2H_5 o Gly-NH_2, o una sal de estos ;

(7) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), en donde la sustancia

166
173

fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C_2H_5,
o un acetato de éste;

(8) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), que se caracteriza en que la cantidad contenida de sustancia fisiológicamente activa es de 17 a 26% (peso/peso) respecto de las microcápsulas totales;

(9) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) que se obtiene por disolución del polímero de ácido láctico o de una de sus sales en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución; disolución de la sustancia fisiológicamente activa compuesta por el péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución; mezcla de la primera solución resultante y la segunda solución resultante para preparar una tercera solución el la cual el polímero de ácido láctico o una de sus sales y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven en forma uniforme;
dispersión de la tercera solución resultante en una cuarta solución compuesta de una solución acuosa de un emulsificante para preparar una emulsión O/A, y
eliminación del primer solvente y el segundo solvente de la microcápsula generada;

(10) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), que se caracteriza en

que un solvente mixto, en el que un tercer solvente miscible en agua se agrega adicionalmente al primer solvente, se usa como solvente para disolver el polímero de ácido láctico o una de sus sales en la preparación de la primera solución;

(11) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), que se caracteriza en que la temperatura controlada de la etapa de emulsificación se ajusta a aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C en el paso de eliminación del primer solvente y del segundo solvente de la microcápsula;

(12) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (11), que se caracteriza en que el control de temperatura de la etapa de emulsificación se realiza por el ajuste de la temperatura de la emulsión O/A a aproximadamente de 15 a 35 °C;

(13) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), en donde las temperaturas respectivas de la tercera solución y cuarta solución en la preparación de la emulsión O/A son aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C;

(14) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), que se caracteriza en que el paso de eliminación del primer solvente y el segundo solvente de la microcápsula se realiza por el método de secado en agua (in water drying method);

(15) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), en donde el primer solvente es diclorometano;

(16) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), donde el segundo solvente y/o tercer solvente es un alcohol inferior;

(17) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (16), donde el alcohol inferior es metanol, etanol o propanol;

(18) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9), que se caracteriza en que la relación de volumen entre el solvente inmiscible en agua y el solvente miscible en agua en la tercera solución es de 35:65 a 55:45;

(19) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9) , que se caracteriza en que la concentración del polímero en la primera solución es aproximadamente de 33 a 45% en peso;

(20) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9) , que se caracteriza en que la cantidad cargada de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación de la tercera solución es de 17 a 50% en peso;

(21) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (9) , que se caracteriza en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa contenida es de 17 a 26% (peso/peso) respecto a las microcápsulas totales;

(22) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (21), que se caracteriza en que la cantidad de cargada de la sustancia fisiológicamente

activa en la preparación de la tercera solución es de 19 a 38% en peso;

(23)La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (21) que se caracteriza en que la cantidad cargada de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación de la tercera solución es del 20 al 23% en peso

(24) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), que se caracteriza en que la composición de liberación sostenida contiene además un ácido graso;

(25) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (24), en donde el ácido graso es por lo menos uno seleccionado entre ácido esteárico, ácido benzoico, ácido hidroxinaftoico y ácido pamoico;

(26) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (24), que se caracteriza en que una relación de ácido graso a microcápsulas totales es aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 50% en peso;

(27) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (24), que se caracteriza en que una cantidad del ácido graso a ser agregada es de 0,1 a 10 moles con respecto a un mol del péptido fisiológicamente activo soluble en agua o de la sal de este;

(28) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) , que se caracteriza por dispersarse fácilmente en un medio para dispersar;

(29) La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la anteriormente mencionada (28), que se caracteriza por ser estable durante 24 horas o más después de la dispersión en el medio para dispersar;

(30) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, que se caracteriza en que la relación del peso molecular promedio en peso (Mp) al peso molecular promedio en número(Mn) es más de 1,9;

(31) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, que se caracteriza en que la relación del peso molecular promedio en peso(Mp) al peso molecular promedio en número(Mn) es más de 1,5;

(32) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), que se caracteriza en que el polímero de ácido láctico es un ácido poliláctico o un polilacturo;

(33) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) , que se caracteriza en que el polímero de ácido láctico es un ácido poli-DL-láctico o un poli-DL-lacturo;

(34) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1), que se caracteriza en que el polímero de ácido láctico es un polímero de ácido

láctico-ácido glicólico;

(35) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (34), que se caracteriza en que la relación de composición ácido láctico-ácido glicólico en el polímero de ácido láctico-ácido glicólico es de 60/40 a 99,9/0,1;

(36) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) , en donde el polímero de ácido láctico es un polímero que incluye un polímero que tiene un peso molecular de 5.000 o menos cuyo contenido es aproximadamente de 5,0% en peso o menos;

(37) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) , en donde el polímero de ácido láctico es un polímero que incluye un polímero que tiene un peso molecular de 3.000 o menos cuyo contenido es aproximadamente de 1,5% en peso o menos;

(38) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) , en donde el polímero de ácido láctico es un polímero que incluye un polímero que tiene un peso molecular de 1.000 o menos cuyo contenido es aproximadamente de 0,1% en peso o menos;

(39) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, en donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es 12.000 a 19.000;

(40) La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente 11.600 a aproximadamente 20.000, donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es 13.000 a 18.000;

(41) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente 21.000 a aproximadamente 27.000, donde el peso molecular promedio en peso(Mp) del polímero de ácido láctico es 19.500a 26.500;

(42) Un proceso para la preparación de la composición de liberación sostenida de una microcápsula que contiene una sustancia fisiológicamente activa del 15 al 35% en peso de las microcápsulas totales, que comprende los pasos de:

(i) la disolución de un polímero de ácido láctico o una sal de este en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución,

(ii) la disolución de la sustancia fisiológicamente activa compuesta de un péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución,

(oí) la mezcla de la primera solución resultante y de la segunda solución resultante para preparar una tercera solución en la que el polímero de ácido láctico o la sal de este y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven en forma uniforme,

(ib.) la dispersión de la tercera solución resultante en una cuarta solución compuesta de una solución acuosa de un tensioactivo para preparar una emulsión O/A, y

(v) la eliminación del primer solvente y el segundo solvente de la microcápsula por un método de secado en agua (in-water drying method) a una temperatura controlada aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C;

(43) El proceso de acuerdo con la anteriormente mencionada (42), en donde el peso molecular promedio en peso del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000.

(44) El proceso de acuerdo con la anteriormente mencionada (42) en donde el peso promedio del peso molecular del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 19.000aproximadamente 27.000;

(45) El proceso de acuerdo con la anteriormente mencionada (42), que se caracteriza en que un solvente mixto en el que se agrega además un tercer solvente miscible en agua, se usa como solvente para disolver el polímero de ácido láctico o la sal de este en el paso (i);

(46) El proceso de acuerdo con la anteriormente mencionada (42), que se caracteriza en que las temperaturas respectivas de la tercera solución y la cuarta solución en la preparación de la emulsión O/A se ajustan aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C;

(47) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (42), que se caracteriza en que se agrega además

un ácido graso o una sal de este a la primera solución y/o a la segunda solución o a la tercera solución;

(48) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (42) , que se caracteriza en que un ácido graso o una sal de este se disuelven en la segunda solución;

(49) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (42) , que se caracteriza en que la cantidad cargada de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación de la tercera solución es del 17 a 50% en peso;

(50) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (42) , que se caracteriza en que la cantidad de sustancia fisiológicamente activa contenida es del 17 al 26% en (peso/peso) respecto de las microcápsulas totales;

(51) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (50), que se caracteriza en que la cantidad cargada de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación de la tercera solución es del 19 al 38% en peso;

(52) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (50) que se caracteriza en que la cantidad cargada de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación de la tercera solución es del 20 al 23% en peso;

(53) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente

mencionada (42) que se caracteriza por mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 60 días a 130 días por la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida;

(54) El proceso para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (42) que se caracteriza por mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre durante un período de aproximadamente 120 días a 400 días por la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida;

(55) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, el cual se caracteriza en que la relación de la concentración máxima en sangre de un componente activo dentro de las 24 horas posteriores a la administración a la concentración promedio en sangre del componente activo durante un período de 24 horas hasta un mes después de la administración es de 2 a 50;

(56) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que la relación de la concentración máxima en sangre de un componente activo dentro de las 24

183

horas después de la administración a la concentración promedio en sangre del componente activo durante un período de un mes a tres meses después de la administración es de 20 a 350;

(57) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva concentración en sangre-tiempo (AUC) de un ingrediente activo dentro de las 24 horas posteriores a la administración, calculada a partir de la concentración en sangre es de 3% a 30% de la AUC total;

(58) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva de concentración en sangre -tiempo (AUC) de un componente activo para un periodo a partir de las 24 horas hasta un mes después de la administración, calculada a partir de la concentración en sangre es de 40% a 80% de la AUC total, y tiene un perfil excelente de liberación sostenida ;

(59) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2 en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva de

concentración en sangre-tiempo (AUC) de un componente activo para un período de un mes a tres meses después de la administración es de 10% a 35% de la AUC total, y tiene un perfil excelente de liberación sostenida;

(60) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que la relación de la concentración máxima en sangre de un componente activo después de la administración a la concentración promedio en sangre del componente activo para un período de 24 horas a un mes después de la administración es de 10 a 90;

(61) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que la relación de la concentración máxima en sangre de un componente activo dentro de las 24 horas después de la administración a la concentración promedio en sangre del componente activo para un período de un mes a seis meses después de la administración es de 20 a 500;

(62) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva

concentración en sangre-tiempo (AUC) de un componente activo dentro de las 24 horas después de la administración, calculada a partir de la concentración en sangre es del 1% a 20% de la AUC total;

(63) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva concentración en sangre -tiempo (AUC) de un ingrediente activo para un período desde 24 horas hasta un mes después de la administración, calculada a partir de la concentración en sangre es del 10% al 50% de la AUC total, y tiene un perfil excelente de liberación sostenida ;

(64) La composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (2) en la que el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva concentración en sangre -tiempo (AUC) de un componente activo para un período desde un mes hasta seis meses después de la administración es del 40% al 90% de la AUC total, y presenta un perfil excelente de liberación sostenida ;

(65) Una composición farmacéutica que comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1);

(66) Un agente profiláctico o terapéutico para cáncer de

próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea, o cáncer de mama, o un agente anticonceptivo, que comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1);

(67) Un agente profiláctico para la recurrencia postoperatoria de cáncer de mama premenopáusico, que comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1);

(68) Un método para prevenir o tratar cáncer de próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea, o cáncer de mama, o un método anticonceptivo que comprende administrar una cantidad efectiva de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) a un mamífero;

(69) Un método para prevenir la recurrencia postoperatoria de cáncer de mama premenopáusico, que comprende administrar una cantidad efectiva de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) a un mamífero;

(70) El método de acuerdo con las anteriormente mencionadas (68) o (69), caracterizado en que la composición de liberación sostenida se prepara por un método de acuerdo con alguna de de las anteriormente mencionadas (42) a (54);

(71) El uso de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) para fabricación de un agente profiláctico o terapéutico para

cáncer de próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea, o cáncer de mama, o un agente anticonceptivo;

(72) El uso de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la anteriormente mencionada (1) para la fabricación de un agente profiláctico para la recurrencia postoperatoria de cáncer de mama premenopáusico y similares.

Breve descripción de las gráficas

La Fig. 1 es una gráfica que muestra cada transición del nivel de fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en el Ejemplo 1 y el Ejemplo comparativo 1 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra tiempo, y el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra la concentración en sangre.

La Fig. 2 es una gráfica que muestra cada transición del nivel de fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en los Ejemplos 1, 2, 3 y 4 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra tiempo, y el valor numérico del eje longitudinal(sic) muestra la concentración en sangre.

La Fig. 3 es una gráfica que muestra Cmax calculada a partir de cada transición de nivel del fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en el Ejemplo 1, Ejemplo 2, Ejemplo 3, Ejemplo 4, Ejemplo 5 y Ejemplo 6 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra la temperatura en

la emulsificación , el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra Cmáx.

La Fig. 4 es una gráfica que muestra el área bajo la curva concentración en sangre-tiempo (AUC) durante 24 horas después de la administración calculada a partir de cada transición del nivel de fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra la temperatura en la emulsificación y el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra AUC.

La Fig. 5 es una gráfica que muestra el AUC para un período que va de la cuarta semana a decimotercera semana después de la administración, calculada a partir de cada transición de nivel del fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, y 6 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra la temperatura en la emulsificación y el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra AUC.

La Fig. 6 es una gráfica que muestra cada transición de nivel del fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en el Ejemplo 5 y el Ejemplo 6 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra tiempo, y el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra la concentración en sangre.

La Fig. 7 es una gráfica que muestra cada tiempo de

dispersión cuando el polvo de la microcápsula preparada en el Ejemplo 6 y el Ejemplo comparativo 1 respectivamente se suspende en un medio de dispersión. El eje horizontal muestra el experimentador (3 en total), el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra el tiempo de dispersión.

La Fig. 8 es un gráfico que muestra cada transición del nivel del fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en el Ejemplo 7 y Ejemplo comparativo 4 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra tiempo, el valor numérico del eje longitudinal (sic) muestra la concentración en sangre.

La Fig. 9 es un gráfico que muestra cada transición del nivel del fármaco en la sangre cuando el polvo de la microcápsula preparada en los Ejemplos 8 y 10, y el Ejemplo comparativo 5 se administra respectivamente por vía subcutánea a una rata. El valor numérico del eje horizontal muestra tiempo, el valor numérico del eje longitudinal(sic) muestra la concentración en sangre .

El Mejor modo de llevar a cabo la invención

Si bien el péptido fisiológicamente activo soluble en agua a emplearla presente invención no está particularmente limitado siempre que sea útil para uso farmacológico, por ejemplo, es adecuado un péptido fisiológicamente activo que tiene un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 40.000, con preferencia, aproximadamente de 400 a aproximadamente 30.000, con más preferencia,

aproximadamente de 500 a aproximadamente 20.000.

El péptido fisiológicamente activo incluye, por ejemplo, hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH), insulina, somatostatina, hormona de crecimiento, hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GH-RH), prolactina, eritropoyetina, hormona adrenocortical, hormona estimulante de melanocitos, hormona liberadora de hormona tiroidea, hormona estimulante de la tiroides, hormona luteinizante, hormona folículo estimulante, vasopresina, oxitocina, calcitonina, gastrina, secretina, pancreozimina, colecistoquinina, angiotensina, lactógeno humano placentario, gonadotropina coriónica humana, encefalina, endorfina, kiotorfina (kyotorphin), tuftsina, timopoyetina, timosina, timotimulina, factor tímico humoral, factor tímico sanguíneo, factor de necrosis tumoral, factor inductor de colonias, motilina, dinorfina, bombesina, neurotensina, ceruleína, bradiquinina, factor natriurético atrial, factor de crecimiento de nervios, factor de crecimiento celular, factor neurotrófico y péptidos que tienen una acción antagonista contra la endotelina, y derivados de estos, y además incluye los fragmentos de estos, o los derivados de los fragmentos y similares.

La sustancia fisiológicamente activa a ser usada en la presente invención puede serlo como tal o como una de sus sales aceptables para uso farmacéutico.

Los ejemplos de tal sal incluyen, en el caso de que la sustancia fisiológicamente activa tenga un grupo básico tal como un grupo amino, una sal con un ácido inorgánico

(denominado también como un ácido libre inorgánico) (por ejemplo, ácido carbónico, ácido bicarbónico (bicarbonic acid(sic)), ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido bórico, etc.), un ácido orgánico (denominado también como un ácido libre orgánico) (por ejemplo, ácido succínico, ácido acético, ácido propiónico, ácido trifluoroacético, etc.) o similares.

Los ejemplos de la sal incluyen, en el caso que la sustancia fisiológicamente activa tenga un grupo ácido tal como un grupo carboxilo, una sal con una base inorgánica (denominada también como base libre inorgánica) (por ejemplo, metal alcalino tal como sodio y potasio, metal alcalinotérreo tal como calcio y magnesio, etc.), una base orgánica (denominada también como base libre orgánica) (por ejemplo, aminas orgánicas tales como trietilamina, aminoácidos básicos tal como arginina, etc.) o similares. Además, el péptido fisiológicamente activo puede formar un compuesto metálico complejo (por ejemplo, un complejo de cobre, un complejo de zinc, etc.).

Un ejemplo preferido del péptido fisiológicamente activo incluye un derivado de LH-RH que es útil para una enfermedad con dependencia de hormona, en especial enfermedad con dependencia de hormonas sexuales tal como cáncer dependiente de hormonas sexuales (por ejemplo, cáncer prostático, cáncer de útero, cáncer de mama, tumor hipofisiario, etc.), hipertrofia prostática benigna, endometriosis, fibroide uterino, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome premenstrual, síndrome ovárico multilocular y similares, y

anticoncepción (o infertilidad en el caso de utilizar un efecto rebote después del retiro del fármaco) y recurrencia postoperatoria de cáncer de mamas premenopáusico, y una de sus sales. Además, el ejemplo incluye un derivado de LH-RH que es efectivo para un tumor benigno o maligno que es independiente de las hormonas sexuales, pero susceptible a LH-RH, o la sal de este.

Un ejemplo de los derivados de LH-RH o la sal de este incluye, por ejemplo, lo descrito en Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives [publicado por The Parthenon Publishing Group Ltd., 1996] y un péptido descrito en JP-A 3-503165, JP-A 3-101695, JP-A 7-97334, JP-A 8-259460, y similares.

Los ejemplos del derivado de LH-RH incluyen un agonista de LH-RH o un antagonista de LH-RH. Como antagonista de LH-RH, por ejemplo, se usa un péptido fisiológicamente activo representado por la fórmula general [I]:

X-D2Nal-D4ClPhe-D3Pal-Ser-A-B-Leu-C-Pro-DAlaNH$_2$

en donde, X representa N(4H$_2$-furoyl)Gly o NAc, A representa un residuo seleccionado de NMeTyr, Tyr, Aph(Atz), y NMeAph(Atz), B representa un residuo seleccionado de DLys(Nic), DCit, DLys(AzaglyNic), DLys(AzaglyFur), DhArg(Et$_2$), DAph(Atz), y DhCi, y C representa Lys(Nisp), Arg, o hArg(Et$_2$), o se usa una sal de estos .

Como agonista de LH-RH, por ejemplo, se usa un péptido fisiológicamente activo representado por una fórmula general [II]:

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

en donde, Y representa un residuo seleccionado de DLeu, DAla, DTrp, DSer(tBu), D2Nal y DHis(ImBzl), y Z representa NH-C_2H_5 o Gly-NH_2, o se usa una sal de estos. En particular, es adecuado un péptido en el que Y es DLeu y Z es NH-C_2H_5 (es decir, Péptido A representado por 5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C_2H_5: leuprorelina) o es apropiada una de sus sales (por ejemplo, acetato).

Estos péptidos se pueden preparar por un método descrito en las referencias precedentes o en las publicaciones o métodos análogos de estos.

Las abreviaturas usadas en este documento representan lo siguiente:

Abreviatura: Nombre

N($4H_2$-furoyl)Gly: residuo de N-tetrahidrofuroilglicina

NAc: grupos N-acetilo

D2Nal: residuo de D-3-(2-naftil)alanina

D4ClPhe: residuo de D-3-(4-cloro)fenilalanina

D3Pal: residuo de D-3-(3-piridil)alanina

NMeTyr: residuo de N-metiltirosina

Aph(Atz): residuo de N-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolil)]fenilalanina

MeAph(Atz): residuo de N-metil-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolil)]fenilalanina

DLys(Nic): residuo de D-(e-N-nicotinoil)lisina

Dcit: residuo de D-citrulina

DLys(AzaglyNic): residuo de D-(azaglicilnicotinoil)lisina

DLys(AzaglyFur): residuo de D-(azaglicilfuranil)lisina

DhArg(Et_2): residuo de D-(N,N'-dietil)homoarginina

DAph(Atz): residuo de D-N-[5'-(3'-amino-1'H-1',2',4'-triazolil)]fenilalanina

DhCi: residuo de D-homocitrulina

Lys(Nisp): residuo de (e-N-isopropil)lisina

hArg(Et_2): residuo de (N,N'-dietil)homoarginina

De otro modo, un aminoácido, cuando se designa con una abreviatura, esta se basa en las abreviaturas de la Comisión para nomenclatura bioquímica de la IUPAC-IUB (European Journal of Biochemistry, Vol. 138, páginas 9 a 37, 1984) o una abreviatura común en el oficio y cuando un aminoácido puede tener isómeros ópticos, a menos que se especifique de otro modo, este representa una forma L.

El polímero de ácido láctico a ser usado en la presente invención (de aquí en adelante, ocasionalmente abreviado como polímero de ácido láctico de la presente invención) incluye un polímero que consiste solo en ácido láctico o en un copolímero de ácido láctico y otro monómero (por ejemplo, ácido glicólico, etc.). El polímero de ácido láctico incluye ácido poliláctico o polilacturo . Como copolímero de ácido láctico-ácido glicólico, se pueden usar los que tienen una relación de composición de ácido láctico/ácido glicólico de 60/40 a 99,9/0,1. En la preparación de liberación sostenida de la presente invención, se prefiere ácido poliláctico o polilacturo , en especial, ácido poli-DL-láctico o poli-DL-lacturo.

Además, el peso molecular promedio en peso del polímero de ácido láctico usado en la preparación de liberación sostenida de la presente invención es por lo general

aproximadamente de 11.000 a aproximadamente 27.000, con preferencia, aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 o aproximadamente de 19.000a aproximadamente 27.000. En particular, para la preparación de liberación sostenida en la que la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa a partir de la preparación puede mantener una concentración efectiva de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 60 días a 130 días, es preferible aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, es más preferible aproximadamente de 12.000 a aproximadamente 19.000 y es aún mas preferible aproximadamente de 13.000 a aproximadamente 18.000. Por otra parte, en la preparación de liberación sostenida en la cual la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la preparación puede mantener una concentración efectiva de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días, es preferible aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, es más preferible aproximadamente de 19.500 a aproximadamente 26.500 y es aún mas preferible aproximadamente de 20.000 a aproximadamente 26.000.

Cuando el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, es preferible que una relación del peso molecular promedio en peso (Mp) al peso molecular promedio en número (Mn) sea más de 1,9. Cuando el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, es preferible que una relación del peso molecular

promedio en peso (Mp) al peso molecular promedio en número(Mn) sea más de 1,5. Aquí un peso molecular promedio en peso (Mp) y un peso molecular promedio en número (Mn) pueden medirse por cromatografía de permeación en gel (GPC). Mp

Además, el polímero de ácido láctico a ser usado en la preparación de liberación sostenida in vivo en la cual la liberación de la sustancia fisiológicamente activa de la preparación puede mantener una concentración efectiva de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días, es un polímero en donde, usualmente el contenido de polímero que tiene un peso molecular de 5.000 o menos es aproximadamente de 5% en peso o menos, con preferencia, el contenido de un polímero que tiene un peso molecular de 5.000 (sic) o menos es aproximadamente 5% (sic) en peso o menos y el contenido de polímero que tiene un peso molecular de 3.000 o menos es aproximadamente de 1,5% en peso o menos, además preferentemente, , el contenido de polímero que tiene un peso molecular de 5.000 o menos es aproximadamente de 5% en peso o menos, el contenido de polímero que tiene un peso molecular de 3.000 o menos es aproximadamente de 1,5% en peso o menos y el contenido de polímero que tiene un peso molecular de 1.000 o menos es aproximadamente de 0,1% en peso o menos.

Un polímero de ácido láctico que tiene el peso molecular alto para ser materia prima del polímero de ácido láctico de la presente invención puede estar disponible en el mercado, o aquellos polimerizados por un método conocido, y el peso

molecular promedio en peso por lo general es aproximadamente de 11.000 a aproximadamente 27.000, con preferencia, aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 o aproximadamente de 19.000a aproximadamente 27.000.

El método de polimerización conocido incluye, por ejemplo, un método de policondensación de ácido láctico y ácido glicólico si es necesario, por ejemplo, un método por polimerización del lacturo por apertura del anillo lacturo, y si es necesario, en conjunto con glycolide (sic)con el uso de un catalizador tal como un ácido de Lewis tal como dietil zinc, trietil aluminio y octilato de estaño, o una sal metálica, un método de polimerización del lacturo por apertura del anillo lacturo además en presencia de un derivado de ácido hidroxicarboxílico cuyo grupo carboxilo está protegido en el método descrito anteriormente (por ejemplo, Publicación Internacional WO 00/35990, y similares), además de un método de polimerización por apertura del anillo donde se agrega un catalizador al lacturo bajo calentamiento (por ejemplo, J. Med. Chem, 16, 897 (1973)), y por ejemplo, un método de copolimerización de lacturo y glycolide(sic).

Los ejemplos de la forma de polimerización incluyen una polimerización en masa donde el lacturo y similares se funden para someterse a una polimerización, una polimerización en solución, en donde el lacturo y similares se disuelve en un solvente apropiado para ser sujeto a una polimerización. Entre ellos, es preferible en la producción industrial, que un polímero obtenido por una polimerización en solución sea usado como materia prima de un polímero de ácido láctico de

la presente invención.

Ejemplos del solvente para disolver el lacturo para la polimerización en solución incluyen hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno y xileno, y decalina, dimetilformamida y similares.

Para hidrolizar el polímero de ácido láctico que tiene alto peso molecular, obtenido como se describió anteriormente, se usa un método de hidrólisis conocido per se, por ejemplo, el polímero de ácido láctico que tiene alto peso molecular se puede disolver en un solvente apropiado y luego, reaccionar por adición de de agua y si es necesario, de un ácido.

Ejemplos del solvente para disolver el polímero de ácido láctico que tiene alto peso molecular incluyen un solvente que puede disolver el polímero de ácido láctico con una cantidad de 10 veces el peso o menos del polímero y específicamente incluye hidrocarburos halogenados tales como cloroformo y diclorometano, hidrocarburos aromáticos tales como tolueno, o-xileno, m-xileno y p-xileno, y éteres cíclicos tales como tetrahidrofurano; acetona; N,N-dimetilformamida y similares.

Adicionalmente, en la polimerización de un polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto, cuando se usa un solvente disponible para la hidrólisis de un polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto, las operaciones de la polimerización y la hidrólisis se pueden realizar continuamente sin aislamiento del polímero de ácido láctico polimerizado que tiene un peso molecular alto.

La cantidad de solvente a ser usado para disolver el polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto es generalmente de 0,1 a 100 veces, con preferencia de 1 a 10 veces con respecto al polímero de ácido láctico como soluto.

La cantidad de agua que se adiciona es generalmente de 0,001 a 1 veces en peso, con preferencia 0,01 a 0,1 veces en peso con respecto al polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto.

El ácido que se agrega, si es necesario, incluye un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico y un ácido orgánico tal como ácido láctico, ácido acético, ácido trifluoroacético y con preferencia un ácido láctico

La cantidad del ácido que se agrega es generalmente de 0 a 10 veces en peso y con preferencia de 0,1 a 1 veces en peso con referencia al polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto.

La temperatura de la reacción de hidrólisis es generalmente de 0 a 150 °C, con preferencia de 20 a 80 °C.

El tiempo de la reacción de hidrólisis puede variar dependiendo del peso molecular promedio en peso del polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto, y de la temperatura de reacción, y es generalmente de 10 minutos a 100 horas, y con preferencia de 1 a 20 horas.

El tiempo de terminación del tratamiento de hidrólisis se determina sobre la base del peso molecular promedio en peso del producto de la hidrólisis. Es decir, el muestreo se realiza apropiadamente durante el tratamiento de hidrólisis,

el peso molecular promedio en peso del producto de hidrólisis en la muestra se mide por cromatografía de permeación de gel (GPC) y, si se confirma que el peso molecular está en el rango numérico especificado, el tratamiento de hidrólisis está terminado.

Como método para la precipitación del polímero de ácido láctico especificado, a partirla solución que contiene el producto de hidrólisis obtenido al someter el polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto a la hidrólisis descrita anteriormente, se pone como ejemplo un método que pone en contacto la solución que contiene el producto de hidrólisis con un solvente que puede precipitar el polímero especificado de ácido láctico contenido en ella, y similares.

Los ejemplos de una modalidad preferible de la solución que contiene el producto de hidrólisis incluyen, por ejemplo, una solución en la que aproximadamente del 10 a 50% en peso del polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular promedio en peso de 15.000 a 50.000, con preferencia 15.000 a 30.000, con más preferencia 17.000 a 26.000, con especial preferencia 17.500 a 25.500 se disuelve en un solvente capaz de disolver el polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular alto tal como hidrocarburos halogenados tales como cloroformo y diclorometano, hidrocarburos aromáticos tales como tolueno, o-xileno, m-xileno, y p-xileno, y éteres cíclicos tales como tetrahidrofúrano: acetona; N,N-dimetilformamida. Cuando la preparación de liberación sostenida de la presente invención no contiene ácido

hidroxinaftoico, se disuelve en una solución en la que aproximadamente del 10 a 50% en peso del polímero de ácido láctico que tiene un peso molecular promedio en peso de 15.000 a 50.000, con preferencia 15.000 a 40.000 y similares se ponen como ejemplo.

Los ejemplos del solvente capaz de precipitar el polímero especificado de ácido láctico contenido en la solución que contiene el producto de hidrólisis incluyen, por ejemplo, alcoholes tales como metanol y etanol, éteres en cadena tales como éter isopropílico, hidrocarburos alifáticos tales como hexano; agua y similares.

La cantidad a ser usada del solvente capaz de precipitar el polímero especificado de ácido láctico es generalmente de 0,1 a 100 veces en peso, con preferencia de 1 a 10 veces en peso para el solvente en la solución que contiene el producto de la hidrólisis.

El ejemplo específico preferible de la combinación de clase y cantidad a ser usada de tal solvente incluye una modalidad en donde se usa el éter isopropílico como solvente para reducir la solubilidad en una cantidad de 2 a 10 veces en peso con respecto al diclorometano en términos de la solución que contiene el producto de hidrólisis donde se usa de 1 a 5 veces en peso de diclorometano como solvente con respecto al soluto.

Cuando el solvente capaz de precipitar el polímero especificado de ácido láctico como un soluto se pone en contacto con la solución que contiene el producto de la hidrólisis, la temperatura del solvente es generalmente de -

20 a 60 °C, con preferencia de 0 a 40 °C, y la temperatura de la solución que contiene producto de la hidrólisis es generalmente de 0 a 40 °C, con preferencia de 10 a 30 °C.

Los ejemplos del método para poner en contacto el solvente y la solución que contiene el producto de la hidrólisis incluyen un método para adicionar de una vez la solución que contiene el producto de la hidrólisis en el solvente , un método de adición gota a gota de la solución que contiene el producto de la hidrólisis al solvente, un método para adicionar de una vez el solvente a la solución que contiene el producto de la hidrólisis, o un método de adición gota a gota del solvente a la solución que contiene el producto de la hidrólisis.

El polímero de ácido láctico de la presente invención obtenido como se describió anteriormente es preferible como sustrato base para una preparación de liberación sostenida porque la cantidad de grupos carboxilo terminales está en el rango que se prefiere como sustrato base para una preparación de liberación sostenida.

En la preparación de liberación sostenida de la presente invención, se puede agregar un ácido graso en la microcápsula de la preparación de liberación sostenida de modo que la concentración del fármaco en sangre sea la ideal en una parte del comienzo dentro de un cierto período de tiempo a partir de la etapa temprana de la administración a un paciente y un péptido fisiológicamente activo soluble en agua como ingrediente activo se pueden liberar en forma sostenida y estable durante una período de tiempo más prolongado.

El ácido graso usado en la presente invención significa un ácido carboxílico que tiene una estructura de cadena con la cadena lineal o un grupo alquilo que tiene cadena lateral y tiene un grupo carboxilo, así como también ácido benzoico, ácido hidroxinaftoico y ácido pamoico. El ácido carboxílico que tiene una estructura de cadena con la cadena lineal o el grupo alquilo que tiene cadena lateral es con preferencia el que tiene cuatro o más carbonos e incluye específicamente ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecílico, ácido láurico, ácido tridecílico. ácido mirístico, ácido pentadecílico, ácido palmítico, ácido heptadecílico, ácido esteárico, ácido nonadecanoico, ácido araquídico, ácido isocrotónico, ácido undecilénico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido sórbico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido araquidónico y similares. Son de mayor preferencia ácido esteárico, ácido benzoico, ácido hidroxinaftoico, ácido pamoico y similares.

Si bien la cantidad de ácido graso que se adiciona puede variar de acuerdo con la clase del ácido graso, la clase de péptido fisiológicamente activo soluble en agua y la cantidad que se adiciona de este, el período de liberación sostenida y similares, esta es de 0,1 a 10 moles, con preferencia de 0,2 a 5 moles, con aún más preferencia de 0,25 a 2 moles, con especial preferencia de 0,5 a 1,5 moles, con respecto a 1 mol del péptido fisiológicamente activo soluble en agua o una de sus sales.

Además, la relación en peso del ácido graso a la

Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltda

PATENTE DE INVENCION

09-63558

T 2/3

microcápsula completa es aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 50% en peso, con preferencia aproximadamente de 0,1 a aproximadamente 25% en peso, aún con más preferencia aproximadamente de 2 a 10% en peso.

Si bien la relación en peso del péptido fisiológicamente activo soluble en agua en la composición de la presente invención puede variar de acuerdo con la clase del péptido fisiológicamente activo, el efecto farmacológico deseado, la duración del efecto y similares, esta es aproximadamente de 15 a aproximadamente 35% en peso, con preferencia, aproximadamente de 16 a aproximadamente 30% en peso, con más preferencia aproximadamente de 17 a aproximadamente 26% en peso, aún con más preferencia aproximadamente de 17 a aproximadamente 23% en peso, y con máxima preferencia aproximadamente de 18 a aproximadamente 22% en peso con respecto a la microcápsula total (el contenido de la sustancia fisiológicamente activa en la microcápsula).

Si bien la relación de peso de la sustancia fisiológicamente activa en la composición de la presente invención puede variar de acuerdo con la clase de la sustancia fisiológicamente activa, el efecto farmacológico deseado, la duración del efecto y similares, esta es, en la composición de liberación sostenida que contiene la sustancia fisiológicamente activa o una de sus sales y el polímero de ácido láctico o una de sus sales, aproximadamente de 0,001 a aproximadamente 50% en peso, con preferencia aproximadamente de 0,02 a aproximadamente 40% en peso, con más preferencia aproximadamente de 0,1 a aproximadamente 30% en peso, y con

máxima preferencia aproximadamente de 14 a aproximadamente 24% en peso con respecto a la suma de la composición, y en el caso de la sustancia fisiológicamente activa no peptídica o la sal de esta, la relación de peso es aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 80% en peso, y con preferencia aproximadamente de 0,1 a aproximadamente 50% en peso.

La forma de la composición de liberación sostenida en el presente documento , es pero no está limitada a, con preferencia una forma de partículas finas, con especial preferencia una forma de microesfera (también denominada como microcápsula en el caso de la composición de liberación sostenida que contiene el polímero de ácido láctico). Además, la microesfera del presente documento, indica una partícula fina esférica inyectable que se puede dispersar en una solución. La forma se puede confirmar mediante la observación, por ejemplo, con un microscopio de barrido electrónico.

A continuación se pondrá como ejemplo un método para producir la composición de liberación sostenida (por ejemplo, una microcápsula) que contiene la presente sustancia fisiológicamente activa o una de sus sales y el presente polímero de ácido láctico o una de sus sales .

En el siguiente proceso de producción, donde sea apropiado, se puede agregar un agente de retención del fármaco (por ejemplo, gelatina, ácido salicílico y similares) por un método conocido per se.

En el presente método, en primer lugar, el polímero de ácido láctico de la presente invención (de aquí en adelante,

denominado también como un polímero biodegradable de la presente invención) o una de sus sales se disuelve en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución. El solvente usado como el primer solvente descrito anteriormente tiene con preferencia un punto de ebullición de 100 °C o menor.

Como primer solvente, por ejemplo, se usa un hidrocarburo halogenado (por ejemplo, diclorometano, cloroformo, dicloroetano, tricloroetano, tetracloruro de carbono y similares), éteres (por ejemplo, éter dietílico, éter diisopropílico y similares), un éster graso (por ejemplo, acetato de etilo, acetato de butilo y similares), un hidrocarburo aromático (por ejemplo, benceno, tolueno, xileno y similares). Entre ellos, se prefiere un hidrocarburo halogenado y el diclorometano es especialmente adecuado. Además, estos se pueden mezclar en una relación apropiada para su empleo.

La concentración del polímero biodegradable de la presente invención en una solución en solvente orgánico puede variar de acuerdo con el peso molecular del polímero biodegradable de la presente invención y la clase del solvente orgánico, pero por ejemplo, cuando se usa diclorometano como un solvente orgánico, la concentración generalmente se selecciona de aproximadamente de 0,5 a aproximadamente 70% en peso, con más preferencia aproximadamente de 1 a aproximadamente 60% en peso, y con especial preferencia aproximadamente de 33 a aproximadamente 45% en peso.

Luego, la sustancia fisiológicamente activa compuesta del péptido fisiológicamente activo soluble en agua se disuelve en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución. El solvente miscible en agua usado como el segundo solvente anterior es miscible en agua a una tasa constante y preferiblemente tiene un punto de ebullición de 100 °C o menos.

Como segundo solvente, por ejemplo, se usan alcoholes inferiores (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, y similares), acetonitrilo, acetona, tetrahidrofurano y similares. Entre ellos, se prefiere un alcohol inferior, y son especialmente adecuados metanol y etanol. Además, estos se pueden mezclar para usar en una relación apropiada.

Además, como solvente para disolver el polímero de ácido láctico o una de sus sales para preparar la primera solución, además de usar el primer solvente se puede agregar un tercer solvente miscible en agua . En este caso, el tercer solvente se puede seleccionar entre los mismos solventes que el segundo solvente.

Posteriormente, la primera solución resultante y la segunda solución se mezclan para preparar una tercera solución. La tercera solución resultante con preferencia es una solución en donde el polímero de ácido láctico o una de sus sales y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven en forma uniforme y adicionalmente, en el próximo paso, el polímero de ácido láctico o una de sus sales y la sustancia fisiológicamente activa no se depositan durante el proceso de eliminación del solvente de la solución.

En este caso, la sustancia fisiológicamente activa se agrega de modo tal que la sustancia fisiológicamente activa está contenida en la cantidad de 15 a 35% (peso/peso) del total de la microcápsula (contenido de la sustancia fisiológicamente activa en la microcápsula). En consecuencia, la cantidad del fármaco que se carga como sustancia fisiológicamente activa es aproximadamente de 17 a aproximadamente 50% en peso, con preferencia aproximadamente de 18 a aproximadamente 43% en peso, con más preferencia aproximadamente de 19 a aproximadamente 38% en peso, aún con más preferencia aproximadamente de 19 a aproximadamente 25% en peso, y con máxima preferencia aproximadamente de 20 a aproximadamente 23% en peso. En el presente documento, la cantidad que se carga es un índice calculado de la cantidad agregada de sustancia fisiológicamente activa con respecto a la cantidad adicionada total de cada componente que comprende la microcápsula de la preparación. Por otra parte, la relación de entrampado del fármaco tal como la sustancia fisiológicamente activa es aproximadamente de 75% en peso o más, con preferencia aproximadamente de 80% en peso o más, con más preferencia aproximadamente de 82% en peso o más, aún con más preferencia aproximadamente de 85% en peso o más, y con máxima preferencia aproximadamente de 89% en peso o más. En el presente documento, la relación de entrampado es un índice calculado del fármaco incorporado en la microcápsula con respecto a la cantidad agregada de la sustancia fisiológicamente activa.

La relación de volumen del anterior solvente inmiscible

en agua al solvente miscible en agua (que incluye el tercer solvente en el caso que se agregue el tercer solvente al primer solvente) a ser usada en el paso de preparación de la tercera solución es generalmente de 35:65 a 55:45.

Luego, la tercera solución resultante se dispersa en una cuarta solución compuesta de una solución acuosa de un emulsificante para preparar la emulsión O (fase oleosa)/W (fase acuosa) y luego se prepara la microcápsula por la eliminación del primer y el segundo solventes antes mencionados. Cuando se agrega un tercer solvente al primer solvente el tercer solvente se elimina simultáneamente en este paso. En este caso, el volumen de la fase acuosa se selecciona generalmente aproximadamente de 1 a aproximadamente 10.000 veces, con más preferencia aproximadamente de 5 a aproximadamente 5.000 veces y con especial preferencia aproximadamente de 10 a aproximadamente 2.000 veces el volumen de la fase oleosa.

El emulsificante contenido en la fase acuosa anterior generalmente puede ser un emulsificante que puede formar una emulsión O/A estable. Específicamente, se usan por ejemplo, tensioactivos aniónicos (por ejemplo, oleato de sodio, estearato de sodio, laurilsulfato de sodio y similares), tensioactivos no iónicos (por ejemplo, éster graso de polioxietilensorbitano [Tween 80, Tween 60; Atlas Powder Co. Ltd], derivados polioxietilénicos de aceite de ricino [HCO-60, HCO-50, Nikko Chemicals Co. Ltd], y similares), polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, carboximetilcelulosa, lecitina, gelatina y ácido hialurónico.

Una clase o algunos de estos se pueden usar solos o en combinación. La concentración para usar está con preferencia en el rango aproximadamente de 0,01 a 10% en peso, y con más preferencia en el rango aproximadamente de 0,05 a aproximadamente 5% en peso.

Se puede agregar un regulador osmótico a la anterior fase acuosa. Dicho regulador osmótico puede ser uno que muestre una presión osmótica en solución acuosa.

Los ejemplos de los reguladores osmóticos incluyen, por ejemplo, alcoholes polivalentes, alcoholes monovalentes, monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y aminoácidos o derivados de estos.

Para los anteriores alcoholes polivalentes, se usan por ejemplo, alcoholes trivalentes tales como glicerina, alcoholes pentavalentes tales como arabitol, xilitol y adonitol, alcoholes hexavalentes tales como manitol, sorbitol y dulcitol. Entre ellos, se prefieren los alcoholes hexavalentes y el manitol es especialmente adecuado.

Los anteriores alcoholes monovalentes incluyen, por ejemplo, metanol, etanol, y alcohol isopropílico y entre ellos, se prefiere el etanol.

Para los monosacáridos anteriores, por ejemplo, se usan pentosas tales como arabinosa, xilosa, ribosa y 2-desoxirribosa, hexosas tales como glucosa, fructosa, galactosa, manosa, sorbosa, ramnosa y fucosa y entre ellas, se prefieren las hexosas.

Para los oligosacáridos anteriores, por ejemplo, se usa trisacáridos tales como maltotriosa y rafinosa,

tetrasacáridos tal como estaquiosa y entre ellos, se prefieren los trisacáridos.

Como los derivados de monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos mencionados anteriormente, se usan por ejemplo, glucosamina, galactosamina, ácido glucurónico, ácido galacturónico y similares.

Como los aminoácidos anteriores, se puede usar cualquiera siempre que esté en la forma L. Por ejemplo, se ejemplifican glicina, leucina, arginina y similares. Entre ellos, se prefiere la L-arginina.

Estos reguladores osmóticos se pueden usar solos o con una mezcla.

Estos reguladores osmóticos se usan a una concentración que hace a la presión osmótica de la fase acuosa externa aproximadamente de 1/50 a aproximadamente 5 veces, con preferencia aproximadamente de 1/25 a aproximadamente 3 veces la presión osmótica de la solución fisiológica salina. Cuando se usa manitol como regulador osmótico, la concentración es con preferencia de 0,5 a 1,5%.

Como el método para eliminar el primer y el segundo solventes (que incluyen un tercer solvente cuando se agrega un tercer solvente al primer solvente; lo mismo se aplica de aquí en adelante), se usa un método conocido per se o método análogo para ello. Los ejemplos de métodos incluyen un método para evaporar un solvente orgánico a presión ambiente o con gradual reducción de la presión con agitación con un agitador tipo propulsor, agitador magnético o similares, y un método para evaporar un solvente orgánico con vacío regulado usando

un evaporador rotatorio y similares. En especial, se prefiere un método de secado en agua (in-water drying method) en donde el solvente se elimina con agitación a presión ambiente.

En la preparación de liberación sostenida de la presente invención, el control de la temperatura del proceso de emulsión en el cual se eliminan el primer y el segundo solventes se puede ajustar con el fin de obtener la concentración ideal del fármaco en sangre en la parte de mantenimiento en un mes o más de un mes después de la administración a los pacientes y liberar en forma estable y sostenible el péptido fisiológicamente activo soluble en agua como ingrediente activo.

La temperatura de control del proceso de emulsificación en el cual se eliminan el primer y el segundo solventes se puede ajustar a, por ejemplo, aproximadamente de 5 a 50 °C. Además, con preferencia se ajusta a aproximadamente de 15 a 35 °C, en especial aproximadamente de 15 a 30 °C. En este caso, el método para controlar la temperatura incluye un método de ajuste de la emulsión anterior O/A a la temperatura anterior, y un método para preparar una emulsión por la mezcla de la tercera y cuarta soluciones ajustadas a la temperatura anterior, como también un método de colocación de todos los procedimientos del proceso de emulsificación en un ambiente ajustado a la temperatura de control.

La microcápsula obtenida de este modo se recoge por centrifugación o filtración, y luego se lava repetidas veces con agua destilada, varias veces, hasta eliminar la sustancia fisiológicamente activa libre, el emulsificante y los

similares que se adhieren a la superficie de la microcápsula, y luego la microcápsula se redispersa en agua destilada antes de liofilizar.

Durante el proceso de preparación, se puede agregar un inhibidor de aglutinación para evitar la aglutinación de las partículas. El inhibidor de la aglutinación incluye, por ejemplo, un polisacárido soluble en agua tal como manitol, lactosa, glucosa, y almidones (por ejemplo, almidón de maíz), aminoácidos tal como glicina, y proteínas tales como fibrina y colágeno. Entre ellos, el manitol es el adecuado.

La cantidad que se adiciona del inhibidor de la aglutinación tal como manitol es generalmente de 0 a aproximadamente 24% en peso de la microcápsula total.

Además, después de la liofilización, cuando sea necesario, las microcápsulas se pueden calentar a presión reducida y con la condición de no causar una fusión mutua de las microcápsulas, eliminar agua y los solventes orgánicos de las microcápsulas. Se prefiere calentar a una temperatura alrededor de o ligeramente superior ala temperatura de transición vítrea del punto intermedio del polímero biodegradable determinada por calorimetría de barrido diferencial bajo las condiciones de incremento de la temperatura a una velocidad de 10 a 20 °C por minuto. Es más preferible calentar a una temperatura alrededor de la temperatura de transición vítrea del punto intermedio del polímero biodegradable o dentro de un rango de temperatura superior en aproximadamente 30 °C ala temperatura de transición vítrea de punto intermedio. En especial, cuando se

usa un polímero ácido láctico-ácido glicólico como polímero biodegradable, se realiza el calentamiento de preferencia a temperaturas que se hallan en el rango cercano ala temperatura de transición vítrea del punto intermedio hasta una temperatura superior ala temperatura de transición vítrea de punto intermedio en 10 °C, aún con preferencia a temperaturas que se hallan en el rango cercano a la temperatura de transición vítrea de punto intermedio hasta una temperatura superior ala temperatura de transición vítrea de punto intermedio en 5 °C.

Si bien el tiempo de calentamiento puede variar de acuerdo con la cantidad de microcápsulas y similares, generalmente es aproximadamente de 12 horas a 168 horas, con preferencia aproximadamente de 24 horas a 120 horas, con especial preferencia aproximadamente de 48 horas a 96 horas después de que microcápsula haya alcanzado por sí misma la temperatura predeterminada.

El método de calentamiento no está especialmente limitado siempre que un conjunto de microcápsulas se puedan calentar en forma uniforme.

Como método de secado por calor, por ejemplo, se usa un método de secado con calor en baño con termostato , baño fluidizado, baño móvil u horno, y un método de secado al calor con microondas. Entre ellos, se prefiere método de secado con calor en baño con termostato.

En la producción de la preparación de liberación sostenida que contiene un ácido graso de la presente invención, esta se puede preparar por la adición de un ácido

graso a la primera solución que es una solución del polímero y/o a la segunda solución que es una solución del péptido fisiológicamente activo o a la tercera solución que es una solución mixta de estas.

A continuación se pone como ejemplo un método para obtener la preparación de liberación sostenida que contiene un ácido graso de la presente invención.

En el método, primero, el polímero de ácido láctico de la presente invención o una de sus sales se disuelve en un primer solvente volátil e inmiscible en agua para preparar una primera solución. En el solvente usado anteriormente como primer solvente, preferiblemente el punto de ebullición es 100 °C o menor.

El primer solvente incluye, por ejemplo, hidrocarburos halogenados (por ejemplo, diclorometano, cloroformo, dicloroetano, tricloroetano, tetracloruro de carbono y similares), éteres (por ejemplo, éter etílico, éter isopropílico, y similares), ésteres de ácidos grasos (por ejemplo, acetato de etilo, acetato de butilo, y similares), hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, benceno, tolueno, xileno, y similares). Entre ellos, se prefiere los hidrocarburos halogenados y es especialmente adecuado el diclorometano. Estos se pueden mezclar para usar en una relación apropiada.

La concentración del polímero biodegradable de la presente invención en la solución en el solvente orgánico puede variar de acuerdo con el peso molecular de polímero biodegradable de la presente invención y la clase de solvente

orgánico y por ejemplo, cuando se usa diclorometano como solvente orgánico, la concentración se selecciona por lo general aproximadamente de 0,5 a aproximadamente 70% en peso, con más preferencia aproximadamente de 1 a aproximadamente 60% en peso, con especial preferencia aproximadamente de 33 a aproximadamente 45% en peso.

Cuando se agrega el ácido graso a la primera solución, que es una solución del polímero, el ácido graso se agrega al primer solvente después de disolver el polímero biodegradable en el primer solvente o cuando el polímero biodegradable está disuelto en el primer solvente. En este momento, si el ácido graso se disuelve cuando se prepara la tercera solución descrita a continuación, el ácido graso no necesita disolverse completamente en este paso, pero si resulta apropiado se puede agregar un agente solubilizante para disolver el ácido graso. El agente solubilizante no está especialmente limitado siempre que se pueda usar como el primer solvente o como el segundo solvente que es un solvente para un péptido fisiológicamente activo, y se prefieren los alcoholes inferiores para ser usados como segundo solvente, y el metanol y el etanol son particularmente preferidos. Además, se puede calentar para disolver el ácido graso.

Luego, la sustancia fisiológicamente activa compuesta de un péptido fisiológicamente activo soluble en agua se disuelve en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución. El solvente usado anteriormente como segundo solvente es miscible enagua a una tasa constante, el punto de ebullición es con preferencia 100

°C o menor.

Como segundo solvente, se usan alcoholes inferiores (por ejemplo, metanol, etanol, propanol y similares), acetonitrilo, acetona, tetrahidrofurano y similares. Entre estos, se prefieren los alcoholes inferiores y, en especial, son adecuados el metanol o el etanol. Además, se pueden mezclar para usar en una proporción apropiada.

Adicionalmente, como solvente para disolver el polímero de ácido láctico o una de sus sales en la preparación de la primera solución, además del uso del primer solvente, se puede agregar a la mezcla un tercer solvente miscible en agua. En este caso, el tercer solvente se puede seleccionar entre los mismos solventes que para el segundo solvente.

Cuando se agrega el ácido graso a la segunda solución que es una solución de un péptido fisiológicamente activo, se agrega el ácido graso al segundo solvente después de que se haya disuelto el péptido fisiológicamente activo en el segundo solvente o cuando el péptido fisiológicamente activo está disuelto en el segundo solvente. En este momento, si el ácido graso se disuelve cuando se prepara la tercera solución descrita más adelante, no es necesario que el ácido graso se disuelva completamente en este paso, pero se puede usar un agente solubilizante para disolver el ácido graso según sea adecuado. El agente solubilizante no está limitado siempre y cuando pueda usarse como primer solvente o como segundo solvente. Además, se puede calentar para disolver el ácido graso.

Posteriormente, se mezclan la primera y segunda solución

obtenidas para preparar la tercera solución. Se prefiere que la tercera solución obtenida aquí sea una solución en la cual el polímero de ácido láctico o una de sus sales y las sustancias fisiológicamente activas se disuelvan uniformemente y, además, en el paso siguiente, el polímero de ácido láctico o una de sus sales y la sustancia fisiológicamente activa no se depositen durante el proceso de eliminación del solvente de la solución. Además, cuando se agrega un ácido graso, se prefiere que el ácido graso se disuelva uniformemente y que, además, en el próximo paso, no se precipite.

En este caso, la sustancia fisiológicamente activa se agrega de manera que la sustancia fisiológicamente activa esté contenida en la cantidad de 15 a 35% (peso / peso) con respecto a toda la microcápsula (un contenido de la sustancia fisiológicamente activa en la microcápsula). Por lo tanto, la cantidad del fármaco que se carga como sustancia fisiológicamente activa es aproximadamente de 17% a aproximadamente 50% en peso; preferentemente alrededor del 18% a alrededor del 43% en peso; más preferentemente alrededor del 19% a alrededor del 38 % en peso, y aun más preferentemente, alrededor del 19% a alrededor del 25% en peso. Pero, la cantidad preferida de todas es del 20% al 22% en peso, aproximadamente. Una cantidad que se carga es un índice calculado de la cantidad agregada de la sustancia fisiológicamente activa con respecto a la cantidad total adicionada de cada componente que comprende una microcápsula en la preparación. La proporción de entrampado del fármaco

tal como una sustancia fisiológicamente activa es aproximadamente de 75% en peso o más, preferentemente aproximadamente de 80% en peso o más, más preferentemente de 82% en peso o más, aun más preferentemente alrededor del 85% en peso o más, y la cantidad preferida de todas es aproximadamente de 89% en peso o más. En el presente documento, la proporción de entrampado es una relación calculada del fármaco incorporado en la microcápsula con respecto a la cantidad adicionada de la sustancia fisiológicamente activa.

La proporción del volumen del solvente no miscible en agua mencionado anteriormente y el solvente miscible en agua (incluyendo el tercer solvente cuando el tercer solvente se incorpora al primero) que se usará en el paso de preparación de la tercera solución es, en general, de 35:65 a 55:45.

Cuando un ácido graso se incorpora a la tercera solución, que es una solución del péptido fisiológicamente activo, el ácido graso se agrega a la tercera solución cuando la primera y segunda soluciones se mezclan o después de que se hayan mezclado dichas soluciones. En este momento, se puede usar un agente solubilizante para disolver el ácido graso, según sea apropiado. El agente solubilizante no está limitado, siempre y cuando se use como primer solvente o como segundo solvente, y se prefieren los alcoholes inferiores usados como segundo solvente, y en particular los preferidos son el metanol y el etanol. Además, se puede calentar el solvente para disolver el ácido graso.

Tal como se mencionó anteriormente, el ácido graso se

puede agregar en cualquier paso en el proceso para preparar la primera solución y/o la segunda solución o para preparar la tercera solución que es una solución mixta de las anteriores. El tiempo de adición del ácido graso no está limitado, siempre y cuando el ácido graso se disuelva en una fase oleosa en el momento en que la tercera solución se emulsifique en la cuarta solución para formar una emulsión, y se determina según el tipo de ácido graso y el tipo de solvente usado en cada paso porque el solvente que disuelve puede variar según el tipo de ácido graso. El ácido graso se agrega, preferentemente, a un solvente que tiene alta solubilidad del ácido graso usado porque si el ácido graso se incorpora a un solvente que tiene baja solubilidad, se puede necesitar un agente solubilizante, y existe la posibilidad de que haya influencia en la proporción del primer y el segundo solventes. Cuando se usa ácido esteárico como ácido graso, es preferible agregarlo al segundo solvente y calentar para disolverlo junto con el péptido fisiológicamente activo.

Entonces, la tercera solución resultante se dispersa en una cuarta solución compuesta por una solución acuosa de un emulsificante para preparar la emulsión O (fase oleosa)/A (fase acuosa), y se prepara la microcápsula eliminando el primer y el segundo solventes mencionados. Cuando se agrega un tercer solvente al primer solvente o se usa un agente solubilizante para disolver el ácido graso, el tercer solvente o el agente solubilizante se eliminan simultáneamente en este paso. En este paso, el volumen de la fase acuosa se selecciona generalmente entre aproximadamente

1 y aproximadamente 10.000 veces; más preferentemente entre aproximadamente 5 y aproximadamente 5.000 veces, pero se prefiere en particular entre aproximadamente 10 y aproximadamente 2.000 veces del volumen de la fase oleosa.

Para el emulsificante contenido en la anterior fase acuosa, se puede usar el mismo emulsificante que en los dados como ejemplo en la preparación de liberación controlada citada que no contiene el ácido graso.

Además, se puede agregar el regulador osmótico a la fase acuosa anterior. El regulador osmótico puede ser cualquier regulador osmótico que presenta una presión osmótica en su solución acuosa y se puede usar el mismo regulador osmótico que en los ejemplos dados en la preparación de liberación controlada citada que no contiene el ácido graso.

Como método para eliminar el primer y el segundo solventes (incluso un tercer solvente o agente solubilizante, cuando el tercer solvente se incorpora al primero o se usa un agente solubilizante para disolver el ácido graso; lo mismo se aplica de aquí en adelante), se usa un método conocido per seo uno de sus métodos análogos. Por ejemplo, un ejemplo del método incluye un método para evaporar el solvente orgánico a presión ambiente o con presión que se reduce gradualmente mientras se agita usando un agitador tipo propulsor o un agitador magnético, o un método para evaporar el solvente orgánico regulando el grado de vacío con un evaporador rotativo. En particular, se prefiere un método de secado en agua donde se elimina un solvente mientras se agita bajo presión ambiente.

La temperatura de control del proceso de emulsificación en el cual se eliminan el primer y segundo solventes se puede ajustar a, por ejemplo, de 5 a 50 °C aproximadamente. Además, se prefiere ajustarlo a aproximadamente de 15 a 35°C.En este caso, un método para controlar la temperatura incluye un método para ajustar la emulsión O/A (aceite en agua) antes mencionada a la temperatura mencionada, y un método para preparar una emulsión mezclando la tercera y cuarta soluciones ajustadas a la temperatura antes mencionada, así como también un método para colocar todos los procedimientos del proceso de emulsificación en un ambiente configurado a la temperatura de control.

La microcápsula obtenida de esta manera se recoge por centrifugado o filtrado, y luego se lava repetidamente con agua destilada varias veces para eliminar la sustancia fisiológicamente activa, el emulsificante y los otros elementos similares que se adhieren a la superficie de la microcápsula, y luego la microcápsula se redispersa en el agua destilada antes de la liofilización.

Durante el proceso de preparación, se puede agregar un inhibidor de aglutinación para evitar la aglutinación de las partículas. El inhibidor de aglutinación incluye, por ejemplo, polisacáridos solubles en agua tales como manitol, lactosa, glucosa y almidones (por ejemplo, almidón de maíz), aminoácidos tales como glicina y proteínas tales como fibrina y colágeno. De ellos, el manitol es el adecuado.

La cantidad del inhibidor de aglutinación que se adiciona, tal como el manitol es, generalmente, de 0 a

aproximadamente 24% en peso en toda la microcápsula.

Además, después de la liofilización, si fuera adecuado, las microcápsulas se pueden calentar bajo presión reducida y en la condición de no causar una fusión mutua de la microcápsula, para eliminar el agua y los solventes orgánicos en las microcápsulas. Se prefiere calentar a una temperatura igual o ligeramente superior a la temperatura de transición vítrea del punto intermedio de un polímero biodegradable determinada con un calorímetro de barrido diferencial bajo la condición de que la temperatura aumente a una velocidad de 10 a 20 °C por minuto. Es más preferible calentar a una temperatura cercana a la temperatura de transición vítrea del punto intermedio del polímero biodegradable o dentro del rango de temperatura mayor en, aproximadamente, 30 °C que la temperatura de transición vítrea del punto intermedio. Especialmente, cuando se usa un polímero de ácido glicólico y ácido láctico como polímero biodegradable, el calentamiento se lleva a cabo preferentemente a temperaturas que están dentro del rango entre la temperatura de transición vítrea del punto intermedio y una temperatura superior a la temperatura de transición vítrea del punto intermedio en 10 °C; aún más preferiblemente a temperaturas que están dentro del rango entre la temperatura de transición vítrea del punto intermedio y una temperatura superior a la temperatura de transición vítrea del punto intermedio en 5 °C.

Aunque el tiempo de calentamiento puede variar según la cantidad de la microcápsula, es, en general, de 12 horas a 168 horas; preferentemente alrededor de 24 horas a 120 horas;

y en especial se prefiere aproximadamente, entre 48 horas a 96 horas, después de que la microcápsula por sí misma haya llegado a la temperatura predeterminada.

El método de calentamiento no está limitado especialmente, siempre y cuando se caliente uniformemente un conjunto de microcápsulas.

Como método de secado por calor se pueden mencionar, por ejemplo, un método de secado por calor en baño con termostato, en baño fluidizado, en baño móvil u horno, y un método de secado por calor por microondas. De estos métodos de secado por calor, se prefiere el baño con termostato .

La preparación de liberación controlada de la presente invención obtenida por los métodos de preparación mencionados se puede obtener como una preparación en la cual la sustancia fisiológicamente activa compuesta por un péptido fisiológicamente activo soluble en agua se dispersa esencialmente de manera uniforme en una microcápsula compuesta por un polímero de ácido láctico o una de sus sales. En el presente documento, "sustancialmente dispersada de manera uniforme" significa que un péptido fisiológicamente activo se dispersa sustancialmente de manera uniforme en el polímero biodegradable. Por ejemplo, incluye, pero no se limita a , una microcápsula endurecida por eliminación del solvente orgánico usando un método de secado en agua (in-water drying method)de una microcápsula generada al someterla a un proceso de emulsificación, con la condición de que el péptido fisiológicamente activo y el polímero biodegradable estén totalmente disueltos en el solvente orgánico. De este

modo, se pueden lograr la supresión de la liberación inicial excesiva del péptido fisiológicamente activo después de la administración y una liberación estable del fármaco en la parte inicial; adicionalmente, también se puede lograr una liberación controlada de una sustancia fisiológicamente activa a niveles de fármaco efectivos en la concentración en sangre durante un período aproximadamente desde 60 días hasta 400 días después de la administración.

Ya que la preparación de liberación controlada de la presente invención obtenida por el método de preparación anterior contiene de 15 a 35% (peso/peso) del péptido fisiológicamente activo soluble en agua por peso unitario de la preparación, el contenido de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación es superior a la contenida en la preparación convencional. Como consecuencia, la tasa del contenido del péptido fisiológicamente activo por volumen unitario de una microcápsula se puede elevar del15 al 35% (peso/peso) y se puede reducir el volumen o peso de toda la preparación de liberación controlada necesaria por dosis unitaria de un ingrediente efectivo. Entonces, se puede reducir la molestia física de los pacientes tal como el dolor durante la administración y el endurecimiento después de la administración, que es considerada como el resultado de la administración de una preparación que tiene un volumen unitario grande.

La composición de liberación controlada de la presente invención puede ser una microesfera, una microcápsula y una micropartícula, y la microcápsula es la adecuada.

La composición de liberación controlada de la presente invención se puede administrar por sí misma o formulada como materia prima en cualquiera de las formas de dosificación tales como formulación intramuscular, subcutánea o inyección en órgano o implantación, una formulación nasal, rectal, y mucosa intrauterina, formulación oral (por ejemplo, una forma de dosificación sólida tal como cápsula (por ejemplo, cápsula dura y cápsula blanda, y similares), gránulos y polvo, o formulación líquida tal como jarabe, emulsión, suspensión y similares), y similares.

Por ejemplo, cuando la composición de liberación controlada de la presente invención se formula en una formulación inyectable, se puede formular en una suspensión acuosa junto con un agente dispersante (por ejemplo, agente tensioactivo tal como Tween 80 y HCO-60, polisacárido tal como hialuronato de sodio, carboximetil celulosa, arginato de sodio y similares), un preservativo (por ejemplo, metilparabeno, propilparabeno y similares), un agente isotónico (por ejemplo, cloruro de sodio, manitol, sorbitol, glucosa, prolina y similares) o se puede formular en una suspensión oleosa dispersando todo junto con un aceite vegetal, tal como aceite de ajonjolí y aceite de maíz para obtener una formulación para inyección de liberación controlada de utilidad práctica.

Cuando la preparación de liberación controlada de la presente invención se dispersa en un medio de dispersión se administra luego como suspensión acuosa, tiene una excelente facilidad de dispersión frente al medió de dispersión y es

estable durante un período de 24 horas o más después de la dispersión. Por lo tanto, puede ser mejor una operatividad relacionada con la preparación para ser administrada en un punto de atención médica..

El diámetro de un particulado de la composición de liberación controlada de la presente invención, cuando se usa como formulación en suspensión inyectable, es un diámetro dentro del rango que satisface la dispersabilidad y permeabilidad de la aguja, por ejemplo, un diámetro promedio de un particulado es, aproximadamente, de 0,1 a 300 µm, preferentemente aproximadamente de 0,5 a 150 µm, más preferentemente entre 1 y 100 µm.

Un método para hacerla composición de liberación controlada de la presente invención en una preparación estéril incluye, pero no se limita a , un método para hacer que todos los procesos de preparación sean estériles, un método de esterilización por rayos gamma, y un método para agregar un agente antiséptico.

La composición de liberación controlada de la presente invención es de baja toxicidad, entonces, se puede usar en un mamífero (por ejemplo, humano, ganado, cerdo, perro, gato, ratón, rata y conejo, y similares) como medicación segura.

Si bien una dosis de la composición de liberación controlada de la presente invención puede variar según el tipo y contenido de la sustancia fisiológicamente activa como ingrediente principal, la forma de dosificación, la duración de la liberación de la sustancia fisiológicamente activa, la enfermedad a tratar y el animal a tratar, puede ser una

cantidad efectiva de la sustancia fisiológicamente activa. Una dosis única de la sustancia fisiológicamente activa como ingrediente principal, por ejemplo, cuando la preparación de liberación controlada es una preparación para6 meses, se puede seleccionar adecuadamente a partir de preferentemente alrededor de 0,01 a 10 mg/kg de peso por adulto, más preferentemente alrededor de 0,05 a 5 mg/kg de peso por adulto.

La dosis única de una composición de liberación controlada se puede seleccionar adecuadamente en un rango preferido de aproximadamente 0,05 a 50 mg/kg de peso por adulto, más preferentemente entre aproximadamente 0,1 a 30 mg/kg de peso por adulto.

Una frecuencia de administración se puede seleccionar adecuadamente según el tipo y contenido de la sustancia fisiológicamente activa como ingrediente principal, la forma de dosificación, la duración de la liberación de la sustancia fisiológicamente activa, la enfermedad a tratar y el animal a tratar, por ejemplo, una vez por varias semanas, una vez al mes, una vez por varios meses (por ejemplo, 3, 4 ó 6 meses o similares).

La preparación de liberación controlada de la presente invención puede suprimir una liberación excesiva del péptido fisiológicamente activo hasta dentro de un día después de la administración, y estabilizar la concentración de fármaco en sangre en el cuerpo del paciente después de un período prolongado por la liberación estable de fármaco en la parte inicial para un período desde 1 día hasta aproximadamente, 1

mes después de la administración. Como consecuencia, la liberación de la sustancia fisiológicamente activa se puede mantener a una concentración efectiva de fármaco en sangre para un período desde aproximadamente 60 hasta400 días después de la administración.

Es decir, cuando la preparación de liberación controlada de la presente invención se administra, por ejemplo, aplicándola a un animal experimental tal como una rata o un animal parecido, la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de las 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo desde las 24 horas hasta 1mes después de la administración es de 2 a 90, y la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo a partir del mes después de la administración hasta el período de liberación controlada predeterminado en la preparación es de 20 a 500.

Él área debajo de la curva concentración en sangre-tiempo (AUC) del ingrediente activo dentro delas 24 horas después de la administración calculada a partir dela concentración en sangre es de 1 a 30% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde las 24 horas hasta 1mes después de la administración calculada a partir dela concentración en sangre es de 10 a 80% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde un mes después de la administración hasta el período de liberación controlada predeterminado para la preparación es de 10 a 90% de la AUC

total.

En particular, cuando la preparación de liberación controlada de la presente invención que usa un polímero de ácido láctico cuyo peso molecular promedio en peso (Mp) es aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 se administra a un paciente, la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación controlada se mantiene a la concentración efectiva del fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 60 a 130 días.

En este caso, por ejemplo, cuando se aplica a un animal experimental tal una como rata o un animal parecido, la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo a partir de las 24 horas hasta 1mes después de la administración es de 2 a 50, y la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de las 24 horas después de la administración a la concentración promedio en sangre del ingrediente activo dentro de las 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo a partir del mes hasta 3 meses después de la administración es de 20 a 350.

La AUC del ingrediente activo dentro delas 24 horas después de la administración calculada a partir dela concentración en sangre es de 3 a 30% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde las 24 horas hasta un mes

después de la administración calculada a partirla concentración en sangre es de 40 a 80% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde un mes hasta3 meses después de la administración es de 10 a 35% de la AUC total.

Cuando la preparación de liberación controlada de la presente invención que usa un polímero de ácido láctico cuyo peso molecular promedio en peso(Mp) es aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000 se administra a un paciente, la liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación controlada se mantiene a una concentración efectiva del fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 a 400 días. En este caso, por ejemplo, cuando se aplica a un animal experimental tal como una rata o un animal parecido, la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo desde 24 horas hasta 1mes después de la administración es de 10 a 90, y la proporción de la concentración máxima en sangre del ingrediente activo dentro de 24 horas después de la administración ala concentración promedio en sangre del ingrediente activo desde 1 mes hasta 6 meses después de la administración es de 20 a 500.

La AUC del ingrediente activo dentro delas 24 horas después de la administración calculada a partir de la concentración en sangre es de 1 a 20% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde las 24 horas hasta un mes después de la administración calculada a partir dela

concentración en sangre es de 10 a 50% de la AUC total, y la AUC del ingrediente activo desde un mes hasta6 meses después de la administración es de 40 a 90% de la AUC total.

Una propiedad de liberación de un fármaco en la composición de liberación controlada de la presente invención está influenciada por la cantidad del fármaco que se carga en la preparación, los aditivos tales como ácido esteárico, varias de las condiciones descritas anteriormente tales como otras condiciones de preparación o la formulación. Por lo tanto, un patrón ideal de concentración en sangre correspondiente al período de liberación controlada se puede seleccionar regulándolo según sea apropiado. En particular, la regulación de la cantidad de un fármaco que se carga para la preparación o los aditivos tales como ácido esteárico permiten un control de la velocidad de liberación en la parte inicial (desde las 24 horas hasat1 mes después de la administración) y así se puede hacer una preparación de liberación controlada que muestre un patrón ideal de concentración en sangre.

Si bien una composición de liberación controlada de la presente invención se puede usar como agente profiláctico/terapéutico contra varias enfermedades según el tipo de sustancia fisiológicamente activa contenida en ella, por ejemplo, cuando la sustancia fisiológicamente activa es un derivado LH-RH, se puede usar como agente profiláctico/terapéutico contra una enfermedad dependiente de hormonas, en especial, una enfermedad dependiente de hormonas sexuales tal como un cáncer dependiente de hormonas sexuales

(por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de útero, cáncer de mama y tumor en la pituitaria etc.) hiperplasia prostática, endometriosis, fibroma de útero, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome premenstrual y síndrome ovárico multilocular, un agente profiláctico contra la recurrencia postoperatoria de cáncer premenopáusico de mama, un agente profiláctico/terapéutico contra una enfermedad tal como el mal de Alzheimer o la inmunodeficiencia y un agente anticonceptivo (o cuando se usa un efecto rebote después de la abstinencia de un fármaco, un agente profiláctico/terapéutico contra la infertilidad) y similares. Además, se puede usar como agente profiláctico/terapéutico contra un tumor benigno o maligno que sea independiente de las hormonas sexuales pero sensible a LH-RH.

Por lo tanto, la administración de una dosis efectiva del presente agente profiláctico/terapéutico a mamíferos puede prevenir/tratar enfermedades dependientes de hormonas sexuales en especial un cáncer dependiente de hormonas sexuales (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de útero, cáncer de mama y tumor en la pituitaria, etc.) hiperplasia prostática, endometriosis, fibroma de útero, pubertad precoz, dismenorrea, amenorrea, síndrome premenstrual y síndrome ovárico multilocular y similares, y puede prevenir la concepción, además puede prevenir una recurrencia postoperatoria de cáncer premenopáusico de mama.

La presente invención se describe, además, en relación con los siguientes ejemplos y ejemplos comparativos, que no

tienen por objetivo restringir la invención.

Ejemplos

El peso molecular promedio en peso y el contenido de cada polímero en los siguientes ejemplos y ejemplos comparativos son un poliestireno de peso molecular promedio en peso reducido derterminado por cromatografía de permeación en gel (GPC) usando un poliestireno monodispersado como sustancia de referencia y el contenido de cada polímero calculado a partir de ellos. Todas las mediciones se realizaron con un aparato de GPC de alta velocidad (HLC-8120GPC; Tosoh Corporation), usando SuperH4000 x 2 y SuperH2000 (ambos de Tosoh Corporation) como columna, y tetrahidrofurano como fase móvil a una velocidad de flujo de 0,6 ml/min. La detección se realiza con base en el índice de refracción diferencial.

Una técnica de medición del nivel de fármaco en sangre incluye los siguientes métodos. Para el acetato de leuprorelina, por ejemplo, acetato de leuprorelina y acetato de leuprorelina marcado con I125 en una muestra de suero reaccionan competitivamente con un anti suero de acetato de leuprorelina de conejo. Una solución en suero de cabra de γ-globulina anti-conejo como segundo anticuerpo y una solución de suero de conejo normal se agregan al conjugado producido, reaccionan, y se centrifuga, y a continuación, se mide la radioactividad del precipitado. La concentración del acetato de leuprorelina en la muestra de suero se obtiene de la curva de calibración producida al mismo tiempo.

Además, el "acetato de leuprorelina" se denomina como

"TAP-144" en las figuras.

Ejemplo 1

Una solución de 3,83 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 14.300) en 6,4 g de diclorometano fue agregada a una solución preparada agregando 4,56 g de metanol a 0,96 g de polvo liofilizado de acetato de leuprorelina, disolviendo el polvo con calentamiento a aproximadamente 50 °C y luego enfriando a temperatura ambiente (25 °C), y se dispersó para preparar la fase oleosa (fase O). En este punto, la cantidad que se carga de la droga es de 20%. Después que se enfrió la fase O a aproximadamente 15 °C, se vertió la solución en 0,8 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 15 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización(Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar una emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y tamizada a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron y recogieron las microcápsulas usando una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd., frecuencia de rotación: aproximadamente 2.500 rpm). Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en agua destilada. Las microcápsulas fueron precipitadas y recogidas repitiendo la misma operación en una centrífuga , y luego se redispersaron en una pequeña cantidad de agua, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena junto con

0,507 g de manitol y se congeló, luego se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo mezclado de las microcápsulas que contenían leuprorelina y manitol (denominado de aquí en adelante "polvo de microcápsulas").

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 15,3%, y el rendimiento fue de aproximadamente 63%. A partir los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula era de 18,0%. El término "el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula" como se menciona en el presente documento significa una proporción calculada en donde el valor calculado multiplicando el total del peso que se carga de cada materia prima (acetato de leuprorelina, polímero de ácido láctico y manitol) por el rendimiento (denominado de aquí en adelante "cantidad obtenida"), seguido por la multiplicación por el "contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsulas" se divide por el valor calculado sustrayendo la cantidad de manitol de la cantidad obtenida, es decir, significa el valor calculado por la siguiente fórmula:

Contenido (%) de acetato de leuprorelina en la microcápsula = [Total (g) del peso cargado de cada materia prima] x [Rendimiento (%)] x [Contenido (%) de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsula]/[[Total (g) del peso que se carga de cada materia prima]x[Rendimiento (%)]-[Cantidad (g) de manitol]] en donde, [Total (g) del peso que se carga de cada materia prima]x[Rendimiento (%)] = [Cantidad obtenida (g)], y corresponde al contenido de acetato de leuprorelina

como la sustancia fisiológicamente activa con respecto a la microcápsula entera (lo mismo se aplica de aquí en adelante).

Ejemplo 2

El polvo de microcápsulas se obtuvo de la misma manera que en el Ejemplo 1 excepto que se preparó a la temperatura de la fase oleosa (fase O) y la temperatura de la solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) se ajustó a aproximadamente 20 °C.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsula obtenido fue de 15,1%, y el rendimiento fue de aproximadamente 64%. A partir delos resultados se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 17,8%.

Ejemplo 3

El polvo de las microcápsulas se obtuvo de la misma manera que en el Ejemplo 1 excepto que se preparó a la temperatura de la fase oleosa (fase O) y la temperatura de la solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) se ajustó a aproximadamente 25 °C.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsula obtenido fue de 14,3%, y el rendimiento fue de aproximadamente 64%. A partir de los resultados se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 16,8%.

Ejemplo 4

El polvo de las microcápsulas se obtuvo de la misma manera que en el Ejemplo 1 excepto que se preparó a la temperatura de la fase oleosa (fase O) y la temperatura de la solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) se ajustó a aproximadamente 30 °C.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 13,4%, y el rendimiento fue aproximadamente de 67%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 15,6%.

Ejemplo 5

Una solución de 119,5 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 14.100) en 200 g de diclorometano se ajustó a 30 °C, y esta solución se agregó a una solución a la cual se agregaron 142,5 g de metanol a 30,0 g de acetato de leuprorelina, disuelta con calentamiento a aproximadamente 40 °C y luego enfriada a temperatura ambiente (25 °C), y dicha mezcla se dispersó para preparar la fase oleosa (fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 20%.Posteriormente, después de que se enfrió la fase O a aproximadamente 15 °C, la solución se vertió en 25 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 15 °C, y se emulsificó con el

mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron en forma continua con una centrífuga(H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se agregaron 21,1 g de manitol y se liofilizó con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas. El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 14%, y el rendimiento fue aproximadamente de 55%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,1%.

Ejemplo 6

Una solución de 119,5 g de polímero de ácido DL-láctico (el peso molecular promedio en peso: 14.100) en 200 g de diclorometano fue ajustada a 30 °C, y esta solución se agregó a una solución en la cual se agregaron 142,5 g de metanol a 30,0 g de acetato de leuprorelina, disuelto con calentamiento a aproximadamente 40 °C y luego enfriado a temperatura

ambiente (25 °C), y dicha mezcla se dispersó para preparar la fase oleosa (fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es 20%.Posteriormente, después de que se enfrió la fase O a aproximadamente 20 °C, la solución se vertió en 25 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 20 °C, y se emulsificó con el mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión de aceite en agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y tamizada a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego, las microcápsulas se precipitaron en forma continua con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 95 µm, luego se agregaron 17,2 g de manitol y se liofilizó n con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas. El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 16,0%, y el rendimiento fue aproximadamente de 76%. A partir los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,5%.

Ejemplo comparativo 1

Para disolver 0,87 g de acetato de leuprorelina, se agregó 1 g de agua destilada. A esta solución se agregó una solución de 7,65 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 13.900) en 12,8 g de diclorometano, y se dispersó levemente en forma manual, luego se emulsionó primariamente con un Polytron (Kinematica) durante aproximadamente 30 segundos para preparar la emulsión de agua/aceite (frecuencia de rotación: aproximadamente 1.000 rpm). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 10%. Luego, después que se enfrió esta emulsión agua/aceite a aproximadamente 15 °C, la solución se vertió en 1,6 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 15 °C, y secundariamente emulsificada con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión agua/aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión agua/aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron usando una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.500 rpm). Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, se les agregaron 0,9 g de manitol y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 7,7%, y el rendimiento fue de aproximadamente 62%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 9,1%.

Ejemplo comparativo 2

Una solución de 3,83 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 13.900) en 6,4 g de diclorometano se agregó a una solución en la cual 7,79 g de metanol se agregaron a 1,64 g del polvo liofilizado de acetato de leuprorelina, disuelto con calentamiento a aproximadamente 50 °C y luego se enfrió a temperatura ambiente (25 °C), y dicha mezcla se dispersó para preparar la fase oleosa (fase O). En este punto, la cantidad de de fármaco que se agrega es de 30%. Luego se vertió la fase O en 0,8 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 15 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.500 rpm). Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en agua

destilada. Las microcápsulas fueron precipitadas y recogidas repitiendo la misma operación de centrifugado para recogerlas, y luego se redispersaron en una pequeña cantidad de agua, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena junto con 0,578 g de manitol y se congelaron, luego se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 16,8%, y el rendimiento fue aproximadamente de 74%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,3%.

Ejemplo comparativo 3

Una solución de 3,83 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 14.300) en 6,4 g de diclorometano se agregó a una solución preparada agregando 9,80 g de metanol a 2,06 g del polvo liofilizado de acetato de leuprorelina, disolviendo el polvo con calentamiento a aproximadamente 50 °C y enfriando a temperatura ambiente (25 °C), y se dispersó para preparar la fase oleosa (Fase O). En este punto, la cantidad de de fármaco que se carga es de 35%. Luego se vertió la fase O en 0,8 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 15 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina:

aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron y recogieron las microcápsulas usando una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.500 rpm). Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en agua destilada. Las microcápsulas fueron precipitadas por la operación de la centrífuga para recogerlas y luego se redispersaron en una pequeña cantidad de agua, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena junto con 0,623 g de manitol y se congeló, luego se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 15,0%, y el rendimiento fue aproximadamente de 73%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 17,3%.

Ejemplo experimental 1

Cada 29 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 1 o 34 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo comparativo 1 se suspendieron en aproximadamente 0,4 ml del vehículo de dispersión, y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 4,5 mg calculada como acetato de leuprorelina), luego se midió la concentración de acetato de leuprorelina en el suero. La transición de la concentración en sangre dentro de las 24

horas y hasta 13 semanas después de la administración se muestra en la Fig. 1. Los resultados calculados de concentración máxima (Cmax) y el área bajo de la curva de concentración en sangre-tiempo (AUC) dentro de las 24 horas después de la administración y la AUC (de la parte inicial) a partir de las 24 horas hasta un mes después de la administración se muestran en la Tabla 1. Como se muestra en la Fig. 1 y la Tabla 1, la Cmax y la AUC dentro de las 24 horas después de la administración en el Ejemplo 1 son menores, y la concentración en sangre y la AUC de la parte inicial son mayores que las del Ejemplo comparativo 1. Es decir, una preparación que usa el método de aceite/agua puede proveer la supresión de la excesiva liberación de droga dentro de las 24 horas después de la administración, y dar por resultado una gran mejoría en la transición de la concentración en sangre en la parte inicial.

Tabla 1

	Dentro de las 24 horas después de la administración		De 24 horas a un mes después de la administración
	Cmax [ng/ml]	AUC [ng semana/ml]	AUC [ng semana/ml]
Ejemplo 1	115,5	4,0	23,1
Ejemplo comparativo 1	211,9	5,1	3,2

Ejemplo experimental 2

Se calculó cada relación de entrampamiento del acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 1, el Ejemplo comparativo 2, o el Ejemplo comparativo 3. Los resultados se muestran en la Tabla 2. El

término "una relación de entrampamiento del acetato de leuprorelina" como se menciona en el presente documento significa una proporción calculada dividiendo "un contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula" por "una cantidad que se carga de acetato de leuprorelina". Como se muestra en la Tabla 2, la relación de entrampamiento se redujo mucho en los Ejemplos comparativos en donde la cantidad de carga era de 30% o más.

Tabla 2

	Ejemplo 1	Ejemplo comparativo 2	Ejemplo comparativo 3
cantidad que se carga de acetato de leuprorelina, [%]	20	30	35
relación de entrampamiento de acetato de leuprorelina, [%]	90,0	64,3	49,4

Ejemplo experimental 3

Cada 29 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 1, 30 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 2, 32 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 3, o 34 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 4 se suspendieron en aproximadamente 0,4 ml del vehículo de dispersión, y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 4,5 mg calculada como acetato de leuprorelina), luego se midió la concentración de acetato de leuprorelina en el suero. La transición de la concentración en sangre dentro de 24 horas y hasta 13 semanas después de la administración se muestra en la Fig. 2. El resultado para la relación entre la temperatura

de emulsificación y la Cmax dentro de 24 horas después de la administración se muestra en la Fig. 3, el resultado para la relación entre la temperatura de emulsificación y la AUC dentro de 24 horas después de la administración se muestra en la Fig. 4, y el resultado para la relación entre la temperatura de emulsificación y la AUC de la parte de mantenimiento (4 semanas o más tarde después de la administración) se muestra en la Fig. 5. Como se muestra en las Figs. 2, 3, y 4, la Cmax y la AUC dentro de 24 horas después de la administración se redujeron dependiendo de la temperatura de emulsificación. Es decir, el aumento de la temperatura de emulsificación puede suministrar la supresión de la excesiva liberación inicial de la droga después de la administración. Además, como se muestra en las Figs. 2 y 5, el nivel de concentración en sangre y la AUC de la parte de mantenimiento se aumentaron dependiendo de la temperatura de emulsificación. Es decir, el aumento de la temperatura de emulsificación puede proveer la mejora de la transición de la concentración en sangre en la parte de mantenimiento.

Ejemplo experimental 4

Cada 32 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 5 ó 28 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 6 se suspendieron en aproximadamente 0,4 ml del vehículo de dispersión y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 4,5 mg calculada como acetato de leuprorelina), luego se midió la concentración del acetato de leuprorelina en el suero. La transición de la concentración

en sangre hasta 13 semanas después de la administración se muestra en la Fig. 6. El resultado para la relación entre la temperatura de emulsificación y la Cmax dentro de 24 horas después de la administración se muestra en la Fig. 3, el resultado para la relación entre la temperatura de emulsificación y la AUC dentro de 24 horas después de la administración se muestra en la Fig. 4, y el resultado para la relación entre la temperatura de emulsificación y la AUC de la parte de mantenimiento (4 semanas o más tarde después de la administración) se muestra en la Fig. 5. Como se muestra en las Figs. 3, 4, y 6, la Cmax y la AUC dentro de las 24 horas después de la administración se redujeron dependiendo de la temperatura de emulsificación. Es decir, el aumento de la temperatura de emulsificación puede proveer la excesiva liberación inicial de la droga después de la administración. Además, como se muestra en las Figs. 5 y 6, el nivel de la concentración en sangre y la AUC de la parte de mantenimiento se aumentó dependiendo de la temperatura de emulsificación. Es decir, el aumento de la temperatura de emulsificación puede proveer la mejora de la transición de la concentración en sangre en la parte de mantenimiento.

Ejemplo experimental 5

Cada polvo de microcápsulas (45 mg calculados como acetato de leuprorelina) preparado en el Ejemplo 6 o el Ejemplo comparativo 1 y el solvente para dispersión (1 ml en volumen) se mezclaron, y se dispersaron levemente con la mano para una dispersión homogénea. Se midió el tiempo desde que

se inició el mezclado hasta que la mezcla se dispersó uniformemente ,en cada caso. El resultado se muestra en la Fig. 7. La mezcla del Ejemplo 6 se dispersó en un tiempo más corto que la del Ejemplo comparativo 1.

Ejemplo comparativo 4

A 2,4 g de acetato de leuprorelina, se agregaron 11,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 9,6 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.700) en 16,8 g de diclorometano, y se dispersó para preparar una fase oleosa (Fase O) homogénea. En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 20%. Luego, la Fase O se vertió en 2L de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para el lavado, luego la mezcla se volvió a centrifugar para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 1,27 g de

manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas obtenido fue de 15,3%, y el rendimiento fue de aproximadamente 65%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 17,9%. El término "el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula" como se menciona en el presente documento significa una proporción calculada en la cual el valor calculado multiplicando el total del peso que se carga de cada materia prima (acetato de leuprorelina, polímero de ácido láctico y manitol) por el rendimiento (denominado de aquí en adelante "cantidad obtenida"), seguido por la multiplicación por "el contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas" es dividido por el valor calculado sustrayendo la cantidad de manitol de la cantidad obtenida, y corresponde al contenido de acetato de leuprorelina como la sustancia fisiológicamente activa con respecto a la microcápsula entera (lo mismo se aplica de aquí en adelante).

Ejemplo comparativo 5

A 1,2 g de acetato de leuprorelina, se agregaron 5,7 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución,

se agregó una solución de 4,8 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 26.100) en 8,4 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 19%. Luego, se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión de aceite en agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). La emulsión de aceite en agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron, se centrifugaron con una centrífuga(CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 14,7%, y el rendimiento fue aproximadamente de 54%. A partir de los resultados, se halló

que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 17,9%.

Ejemplo comparativo 6

A 1,35 g de acetato de leuprorelina, se agregaron 6,41 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución se agregó una solución de 4,65 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.700) en 8,14 g de diclorometano y se mezcló con agitación para preparar una fase enaceite (Fase O) homogénea. En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego, se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18°C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización r (TokushuKika Kogyo Corporation) para preparar una emulsión de aceite en agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). La emulsión de aceite en agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron y se recogieron las microcápsulas con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se centrifugó nuevamente la mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol, y la mezcla se dispersó en una pequeña cantidad de agua destilada. La

dispersión se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de a microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas obtenido fue de 16,8%, y el rendimiento fue aproximadamente de 55%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 20,3%.

Ejemplo 7

A 1,14 g de acetato de leuprorelina y 0,269 g de ácido esteárico, se agregaron 5,7 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,53 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.700) en 7,93 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 19%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión de aceite en agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y tamizada a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron y se recogieron las microcápsulas

con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas obtenido fue de 15,4%, y el rendimiento fue aproximadamente de 57%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,5%. El término "el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula" como se menciona en el presente documento significa una proporción calculada en la cual el valor calculado multiplicando el total del peso que se carga de cada materia prima (acetato de leuprorelina, polímero de ácido láctico, ácido esteárico y manitol) por el rendimiento (denominado de aquí en adelante "cantidad obtenida"), seguido por la multiplicación por "el contenido de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas" es dividido por el valor calculado sustrayendo la cantidad de manitol de la cantidad obtenida y corresponde al contenido de acetato de leuprorelina como la sustancia fisiológicamente activa con respecto a toda la microcápsula (lo mismo se aplica de aquí en adelante).

Ejemplo 8

A 1,14 g de acetato de leuprorelina y 0,269 g de ácido esteárico, se agregaron 5,7 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego esta solución se ajustó a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,53 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 26.100) en 7,93 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa (Fase O) homogénea. En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 19%. Luego, se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y tamizada a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego, se precipitaron y se recogieron las microcápsulas, se centrifugaron con una centrífuga(CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena.

Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 14,7%, y el rendimiento fue aproximadamente de 56%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 17,8%.

Ejemplo 9

A 1,29 g de acetato de leuprorelina y 0,3025 g de ácido esteárico, se agregaron 6,413 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,347 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.700) en 7,608 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa (Fase O) homogénea. En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 21,7%. Luego, se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron, se centrifugaron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.;

frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de que se retiró el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo para microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas obtenido fue de 17,1%, y el rendimiento fue aproximadamente de 58%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 20,5%.

Ejemplo 10

A 1,29 g de acetato de leuprorelina y 0,3025 g de ácido esteárico, se agregaron 6,413 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,347 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 26.100) en 7,608 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 21,7%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de

homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua fue secada en agua durante aproximadamente 3 horas, y tamizada a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm. Luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron, se centrifugaron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 15,2%, y el rendimiento fue aproximadamente de 59%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,2%.

Ejemplo 11

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 0,079 g de ácido esteárico (0,25 moles por moles de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,57 g de

polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 8,0 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 18,1%, y el rendimiento fue aproximadamente de 68%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la

microcápsula fue de 21,1%.

Ejemplo 12

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 0,157 g de ácido esteárico (0,5 moles por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,5 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,9 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua

destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 17,5%, y el rendimiento fue aproximadamente de 56%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 21,1%.

Ejemplo 13

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 0,315 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,34 g de polímero de ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,6 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que

tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 16,7%, y el rendimiento fue aproximadamente de 52%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 20,5%.

Ejemplo 14

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 0,471 g de ácido esteárico (1,5 moles por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,19 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,34 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1%

(p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsulas obtenido fue de 17,1%, y el rendimiento fue aproximadamente de 73%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,7%.

Ejemplo 15

A 1,23 g de acetato de leuprorelina y 0,287 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se

agregaron 5,8 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,49 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,9 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 20,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron en una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y dicha mezcla se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de

microcápsulas obtenido fue de 15,8%, y el rendimiento fue aproximadamente de 66%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,5%.

Ejemplo 16

A 1,29 g de acetato de leuprorelina y 0,300 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,1 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,42 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,7 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 21,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha

mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y dicha mezcla fue recuperada en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 15,9%, y el rendimiento fue aproximadamente de 56%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,2%.

Ejemplo 17

A 1,41 g de acetato de leuprorelina y 0,328 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 6,7 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,27 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 7,5 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 23,5%. Luego se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión

aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsulas obtenido fue de 17,0%, y el rendimiento fue aproximadamente de 71%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,6%.

Ejemplo 18

A 1,47 g de acetato de leuprorelina y 0,342 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 7,0 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 4,20 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso:

21.800) en 7,4 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 24,5%. Luego, se vertió la Fase O en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y se recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). Se agregó agua destilada a las microcápsulas para lavar, luego se volvió a centrifugar dicha mezcla para precipitar las microcápsulas. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol a esta mezcla para dispersar en una pequeña cantidad de agua destilada, y se recuperó dicha mezcla en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsulas obtenido fue de 16,3%, y el rendimiento fue aproximadamente de 77%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,6%.

Ejemplo 19

A 33,75 g de acetato de leuprorelina y 7,56 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 160,33 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 108,68 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 190,2 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Luego, después que se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 25 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron en forma continua las microcápsulas con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y

tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se agregaron 17,2 g de manitol y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 18,2%, y el rendimiento fue aproximadamente de 80%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 20,9%.

Ejemplo 20

A 30,0 g de acetato de leuprorelina y 6,725 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 142,5 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 113,28 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 198,23 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 20,0%. Luego se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 25 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la

bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron en forma continua las microcápsulas con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recolectadas fueron dispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se agregaron 17,2 g de manitol y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 16,6%, y el rendimiento fue aproximadamente de 80%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,0%.

Ejemplo 21

A 22,68 g de acetato de leuprorelina y 5,08 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina), se agregaron 107,7 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 80,24 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 26.100) en 140,4 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de

21,0%. Luego, después que se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 18 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron en forma continua las microcápsulas con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas se redispersaron en una pequeña cantidad de agua destilada, y se tamizaron a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se agregaron 13,3 g de manitol y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 16,5%, y el rendimiento fue aproximadamente de 73%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 19,4%.

Ejemplo 22

A 31,5 g de acetato de leuprorelina, se agregaron 130,08 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 111,44 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 26.300) y 7,06 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina) y se adicionó ala mezcla de 195,0 g de diclorometano y 19,50 g de metanol, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 21,0%. Después se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 25 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego se precipitaron en forma continua las microcápsulas con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se

agregaron 17,2 g de manitol y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de las microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 17,5%, y el rendimiento fue aproximadamente de 78%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 20,2%.

Ejemplo 23

A 33,75 g de acetato de leuprorelina, se agregaron 141,31 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución, se agregó una solución de 108,68 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 22.100) y 7,56 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina) en la mezcla de 190,2 g de diclorometano y 19,02 g de metanol, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Después se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 25 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar la emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la

bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm.). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, las microcápsulas se precipitaron en forma continua con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, y el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas fueron redispersadas en una pequeña cantidad de agua destilada, y tamizadas a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm, luego se agregaron 17,2 g de manitol y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelína en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 18,4%, y el rendimiento fue aproximadamente de 77%. A partir de los resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 21,2%.

Ejemplo 24

A 30 g de acetato de leuprorelina se agregaron 122,68 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución se agregó una solución de 113,28 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 22.100) y 6,725 g de ácido esteárico (1 mol por mol de acetato de leuprorelina) en la mezcla de 198,2 g de diclorometano y 19,82 g de metanol, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de

fármaco que se carga es de 20%. Después se ajustó la Fase O a aproximadamente 30 °C, se vertió la Fase O en 25 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18°C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización HOMOMIC LINE FLOW (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar una emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm, y la frecuencia de rotación de la bomba de circulación: aproximadamente 2.000 rpm). Esta emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego, las microcápsulas se precipitaron en forma continua con una centrífuga (H-600S; Kokusan Enshinki; frecuencia de rotación: aproximadamente 2.000 rpm, el caudal: aproximadamente 600 ml/min) y se recogieron. Las microcápsulas recogidas se dispersaron nuevamente en una pequeña cantidad de agua destilada y se tamizaron a través de un tamiz que tenía una abertura de 90 µm. Luego, se agregaron 19,9 g de manitol a la misma y se liofilizaron con un liofilizador (DFM-05A-S, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 15,4%, y el rendimiento fue aproximadamente de 66%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 18,7%.

Ejemplo 25

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 0,907 g de ácido esteárico (3 moles por mol de acetato de leuprorelina) se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución se agregó una solución de 3,74 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 6,5 g de diclorometano y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Esta Fase O se vertió en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar una emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina: aproximadamente 7.000 rpm). La emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). A las microcápsulas se agregó agua destilada para lavar y se centrifugaron nuevamente para precipitar. Después de retirar el sobrenadante se agregaron 0,635 g de manitol, y la mezcla se dispersó en una pequeña cantidad de agua destilada. La dispersión se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló, y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 9,6%, y el rendimiento fue aproximadamente de 44%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 12,2%.

Ejemplo 26

A 1,35 g de acetato de leuprorelina y 1,513 g de ácido esteárico (5 moles por mol de acetato de leuprorelina) se agregaron 6,4 g de metanol para disolver con calentamiento a aproximadamente 40 °C, luego se ajustó esta solución a 30 °C. A esta solución se agregó una solución de 3,14 g de polímero del ácido DL-láctico (peso molecular promedio en peso: 21.800) en 5,5 g de diclorometano, y se mezcló con agitación para preparar una fase oleosa homogénea (Fase O). En este punto, la cantidad de fármaco que se carga es de 22,5%. Esta Fase O se vertió en 1 l de una solución acuosa al 0,1% (p/p) de alcohol polivinílico (EG-40, Nippon Synthetic Chemical Industry Co., Ltd.) preajustada a aproximadamente 18 °C, y se emulsificó con un mezclador de homogenización (Tokushu Kika Kogyo Corporation) para preparar una emulsión aceite/agua (frecuencia de rotación de la turbina; aproximadamente 7.000 rpm). La emulsión aceite/agua se secó en agua durante aproximadamente 3 horas, y se tamizó a través de un tamiz que tenía una abertura de 75 µm, luego las microcápsulas se precipitaron y recogieron con una centrífuga (CR5DL; Hitachi, Ltd.; (frecuencia de rotación: aproximadamente 3.000 rpm). A las microcápsulas se agregó agua destilada para lavar, y se

centrifugaron nuevamente para precipitar. Después de retirar el sobrenadante, se agregaron 0,635 g de manitol y la mezcla se dispersó con una pequeña cantidad de agua destilada. La dispersión se recuperó en un matraz con forma de berenjena. Esta dispersión se congeló y se liofilizó con un liofilizador (DF-01H, ULVAC) para obtener el polvo de microcápsulas.

El contenido de acetato de leuprorelina en el polvo de las microcápsulas obtenido fue de 5,3%, y el rendimiento fue aproximadamente de 53%. A partir delos resultados, se halló que el contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula fue de 6,5%.

Ejemplo experimental 6

Cada 59 mg del polvo para microcápsulas preparado en el Ejemplo comparativo 4, o 59 mg del polvo para microcápsulas preparado en el Ejemplo 7, fueron suspendidos en aproximadamente 0,4 ml del vehículo de dispersión, y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 9 mg calculada como acetato de leuprorelina), luego se midieron las concentraciones de acetato de leuprorelina en el suero. La transición de la concentración en sangre se muestra en la Fig. 8. Para el período a partir de 1 semana hasta 10 semanas después de la administración, el nivel de concentración en sangre del Ejemplo 7 fue mucho mayor que el del Ejemplo comparativo 2. Es decir, una adición de ácido esteárico puede dar por resultado la mejora de la velocidad de liberación de la droga, y puede proporcionar una mejora de los niveles de la concentración en sangre a en la parte inicial (a partir de

24 horas a 1 mes después de la administración) y en la parte de mantenimiento (1 mes o más tarde después de la administración).

Ejemplo experimental 7

Cada 61 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo comparativo 5, 61 mg del polvo de las microcápsulas preparado en el Ejemplo 8, o 59 mg del polvo para microcápsulas preparado en el Ejemplo 10 se suspendieron en aproximadamente 0,4 ml del vehículo de dispersión, y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 9 mg calculada como acetato de leuprorelina), posteriormente se midieron las concentraciones de acetato de leuprorelina en el suero. La transición de la concentración en sangre se muestra en la Fig. 9. En el período de 4 semanas después de la administración, el nivel de concentración en sangre del Ejemplo 8 y el Ejemplo 10 fue mucho mayor que el del Ejemplo comparativo 3. Adicionalmente, en la sección vacía observada en el segundo día después de la administración en el Ejemplo 8, el Ejemplo 10 mantuvo el alto nivel, y mostró un patrón de concentración en sangre más favorable. Es decir, el control de la cantidad que se adiciona de ácido esteárico y de la dosis de fármaco que se carga puede proporcionar el control de la velocidad de liberación en la parte inicial (a partir de las 24 horas hasta1 mes después de la administración) y el logro del modelo ideal de concentración en sangre.

Ejemplo experimental 8

Se calcularon las relaciones de entrampamiento a de acetato de leuprorelina en el polvo para microcápsulas preparado en el Ejemplo 15, el Ejemplo 16, el Ejemplo 13, el Ejemplo 17 y el Ejemplo 18, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 3. El término "relación de entrampamiento de acetato de leuprorelina" como se menciona en el presente documento significa una proporción calculada dividiendo "un contenido de acetato de leuprorelina en la microcápsula" por "una cantidad que se carga de acetato de leuprorelina". Como se muestra en la Tabla 3, se observó una tendencia levemente decreciente de la relación de entrampamiento después de que la cantidad de carga excedió 23,5%.

Tabla 3

	Ejemplo 15	Ejemplo 16	Ejemplo 13	Ejemplo 17	Ejemplo 18
Relación molar del ácido esteárico agregado al acetato de leuprorelina	1	1	1	1	1
Cantidad de carga de acetato de leuprorelina, [%]	20,5	21,5	22,5	23,5	24,5
relación de entrampamiento del acetato de leuprorelina, [%]	90,2	89,3	91,0	83,7	76,1

Ejemplo experimental 9

Se calcularon las relaciones de entrampamiento del acetato de leuprorelina en el polvo de microcápsulas

preparado en el Ejemplo comparativo 4, el Ejemplo 11, el Ejemplo 12, el Ejemplo 13, el Ejemplo 14, el Ejemplo 25 y el Ejemplo 26, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 4. Se observó una tendencia decreciente de la relación de entrampamiento después de que la relación molar del ácido esteárico agregado al acetato de leuprorelina excedió 1,5.

Tabla 4

	Ejemplo comparativo 4	Ejemplo 11	Ejemplo 12	Ejemplo 13	Ejemplo 14	Ejemplo 25	Ejemplo 26
Relación molar entre el ácido esteárico agregado y el acetato de leuprorelina	0	0,25	0,5	1,0	1,5	3,0	5,0
Cantidad de carga de acetato de leuprorelina, [%]	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5
Relación de entrampamiento del acetato de leuprorelina, [%]	90,4	93,6	93,9	91,0	87,6	54,1	28,8

Ejemplo experimental 10

59 mg del polvo de microcápsulas preparado en el Ejemplo comparativo 4, 54 mg del polvo de s microcápsulas preparado en el Ejemplo comparativo 6, 50 mg del polvo de microcápsulas preparado en el Ejemplo 19, 54 mg del polvo de microcápsulas preparado en el Ejemplo 20 y 55 mg del polvo de microcápsulas preparado en el Ejemplo 21 fueron suspendidos en aproximadamente 0,4 ml de vehículo de dispersión, respectivamente, y se administraron subcutáneamente a una rata (dosis de 9 mg como acetato de leuprorelina, respectivamente), luego se midieron las concentraciones de acetato de leuprorelina en el suero. Los resultados del nivel máximo en sangre (Cmax) y de la AUC dentro de las 24 horas después de la administración, de la AUC a partir de 24 horas

hasta un mes después de la administración (parte inicial) y la concentración en el suero en el sexto mes después de la administración se muestran en la Tabla 5. Como se puede ver de la Tabla 5, la preparación de los Ejemplos 19, 20 y 21 en donde la cantidad de fármaco que se carga es de aproximadamente 20 a 22,5% y contiene ácido esteárico, tuvo un alto nivel en sangre y alta AUC para la parte inicial, comparado con la preparación de los Ejemplos comparativos 4 y 6 en donde la cantidad de fármaco que se carga es de aproximadamente 20 a 22,5% y no contiene ácido esteárico. Por otra parte, el fármaco se detectó en la sangre aún 6 meses después de la administración, y está confirmado que el fármaco se libera durante un largo período de tiempo. Es decir, la transición del nivel en sangre en la parte inicial pudo ser mejorada significativamente por el contenido de ácido esteárico.

Tabla 5

	dentro de las 24 horas después de la administración		desde 24 horas hasta un mes después de la administración	seis meses después de la administración
	Cmax [ng/ml]	AUC [ng semana/ml]	AUC [ng semana/ml]	concentración en suero [ng/ml]
Ejemplo comparativo 4	49,07	0,67	1,71	1,02
Ejemplo comparativo 6	129,97	1,56	2,30	1,17
Ejemplo 19	220,65	3,48	15,01	0,39
Ejemplo 20	132,63	1,95	7,06	0,84
Ejemplo 21	268,50	4,43	19,77	0,35

Aplicabilidad industrial

La composición de liberación sostenida de la presente invención puede contener una cantidad alta de una sustancia fisiológicamente activa y suprimir la liberación inicial excesiva de la misma y permitir una velocidad de liberación estable a largo plazo.

Es decir, se puede lograr la supresión de la liberación inicial excesiva del péptido fisiológicamente activo y la liberación estable de la droga en la parte inicial después de la administración, adicionalmente, la composición de liberación sostenida de la presente invención puede liberar en forma sostenida estable la sustancia fisiológicamente activa durante un largo período a partir aproximadamente de 60 hasta 400 días después de la administración a la concentración efectiva en sangre.

Adicionalmente, como el contenido de la sustancia fisiológicamente activa en la preparación es mayor que el de la preparación convencional, se pueden reducir el volumen y el peso de toda la preparación de liberación sostenida que se requiere por dosis unitaria del ingrediente activo. De este modo, se puede aliviar la molestia física en los pacientes, tales como el dolor en el momento de la administración y la induración después de la administración, que se cree se deben a la administración de una preparación que tiene un gran volumen unitario.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de liberación sostenida en donde una sustancia fisiológicamente activa compuesta por un péptido fisiológicamente activo soluble en agua es dispersado en forma sustancialmente uniforme en una microcápsula compuesta por un polímero de ácido láctico o una de sus sales, en donde una sustancia fisiológicamente activa está contenida en una cantidad de 15 a 35 % (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales, y el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.000 a aproximadamente 27.000.

2. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es uno cualquiera seleccionado entre:

(i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 y

(ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000.

3. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, que comprende mantener un nivel efectivo del fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 60 días a 130 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

4. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, que comprende mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

5. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un derivado de LH-RH.

6. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z
en donde, Y representa DLeu, DAla, DTrp, DSer (tBu), D2Nal o DHis (ImBzl) y Z representa NH-C_2H_5 o Gly-NH_2, o una sal de estos.

7. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C_2H_5
o uno de sus acetatos.

8. La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la reivindicación 1, caracterizada en que el contenido de la sustancia fisiológicamente activa contenida es de 17 a 26% (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales.

9. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, la cual se obtiene disolviendo el polímero de ácido láctico o su sal en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución,
la disolución de la sustancia fisiológicamente activa compuesta por el péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución,
la mezcla de la primera solución resultante y la segunda solución resultante para preparar una tercera solución en la cual el polímero de ácido láctico o su sal y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven en forma uniforme,
la dispersión de la tercera solución resultante en una cuarta solución compuesta por una solución acuosa de un emulsificante para preparar una emulsión aceite/agua, y
la eliminación del primer solvente y del segundo solvente de la microcápsula generada.

10. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que el solvente mixto, en el cual un tercer solvente miscible en agua se agrega adicionalmente al primer solvente, se usa como un solvente para disolver el polímero de ácido láctico o su sal

en la preparación de la primera solución.

11. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que la temperatura controlada del paso de emulsificación se ajusta a aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C en el paso de eliminar el primer solvente y el segundo solvente de la microcápsula.

12. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizada en que el control de la temperatura del paso de emulsificación se realiza ajustando la temperatura de la emulsión aceite/agua a aproximadamente de 15 a 35 °C.

13. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, en donde las temperaturas respectivas de la tercera solución y la cuarta solución en la preparación de la emulsión aceite/agua son aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C.

14. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que el paso de eliminar el primer solvente y el segundo solvente de la microcápsula se realiza con un método de secado en agua (in-water drying method).

15. La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la reivindicación 9, en donde el primer solvente es diclorometano.

16. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el segundo solvente y/o el tercer solvente es un alcohol inferior.

17. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el alcohol inferior es metanol, etanol, o propanol.

18. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que la relación de volumen entre el solvente inmiscible en agua y el solvente miscible en agua en la tercera solución es de 35:65 a 55:45.

19. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que la concentración de polímero en la primera solución es aproximadamente de 33 a 45% en peso.

20. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que cantidad de la sustancia fisiológicamente activa que se carga para la preparación de la tercera solución es de 17 a 50% en peso.

21. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que el la cantidad

de la sustancia fisiológicamente activa contenida es de 17 a 26% (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales.

22. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 21, caracterizada en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa que se carga para la preparación de la tercera solución es de 19 a 38% en peso.

23. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 21, caracterizada en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa que se carga para la preparación de la tercera solución es de 20 a 23% en peso.

24. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada en que la composición de liberación sostenida contiene además un ácido graso.

25. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el ácido graso es por lo menos uno seleccionado entre ácido esteárico, ácido benzoico, ácido hidroxinaftoico, y ácido pamoico.

26. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 24, caracterizada en que la relación entre el ácido graso y las microcápsulas totales es aproximadamente de 0,01 a aproximadamente 50% en peso.

27. La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la reivindicación 24, caracterizada en que la cantidad del ácido graso a ser agregada es de 0,1 a 10 moles con respecto a un mol del péptido fisiológicamente activo soluble en agua o su sal.

28. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por ser fácilmente dispersable en un medio de dispersión.

29. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 28, caracterizada por ser estable durante 24 horas o más después de la dispersión en el medio para dispersar.

30. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual está caracterizada porque la relación entre el peso molecular promedio en peso (Mp) y el peso molecular promedio en número (Mn) es más de 1,9.

31. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual está caracterizada porque la relación entre el peso molecular promedio en peso (Mp) y el peso molecular promedio en número

(Mn) es más de 1,5.

32. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada en que el polímero de ácido láctico es ácido poliláctico o polilacturo.

33. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada en que el polímero de ácido láctico es ácido poli-DL-láctico o poli-DL-lacturo.

34. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada en que el polímero de ácido láctico es un polímero de ácido láctico-ácido glicólico.

35. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 34, caracterizada en que la relación de composición ácido láctico/ácido glicólico en el polímero de ácido láctico-ácido glicólico es de 60/40 a 99,9/0,1.

36. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero de ácido láctico es un polímero que contiene un polímero que tiene un peso molecular de 5.000 o menos, cuyo contenido es aproximadamente de 5,0% en peso o menos.

37. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero de ácido

láctico es un polímero que contiene un polímero que tiene un peso molecular de 3.000 o menos, cuyo contenido es aproximadamente de 1,5% en peso o menos.

38. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polímero de ácido láctico es un polímero que contiene un polímero que tiene un peso molecular de 1.000 o menos, cuyo contenido es aproximadamente de 0,1% en peso o menos.

39. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde e el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es de 12.000 a 19.000.

40. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es de 13.000 a 18.000.

41. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, en donde

el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es del9.500 a 26.500.

42. Un procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de una microcápsula que contiene una sustancia fisiológicamente activa del15 al35% en peso con respecto a las microcápsulas totales, que comprende los pasos de:

(i) la disolución de un polímero de ácido láctico o una de sus sales en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución,

(ii) la disolución de la sustancia fisiológicamente activa compuesta por un péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un segundo solvente miscible en agua, para preparar una segunda solución,

(iii) la mezcla dela primera solución resultante y la segunda solución resultante para preparar una tercera solución en la cual el polímero de ácido láctico o su sal y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven uniformemente,

(iv) la dispersión dela tercera solución resultante en una cuarta solución compuesta por una solución acuosa de un tensioactivo para preparar una emulsión aceite/agua, y

(v) eliminación del primer solvente y del segundo solvente de la microcápsula mediante un método de secado en agua (in-water drying method) a una temperatura controlada aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C.

43. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación

42, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000.

44. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 42, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000.

45. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 42, caracterizado en que el solvente mixto en el cual se agrega un tercer solvente miscible en agua adicionalmente al primer solvente, se usa como un solvente para disolver el polímero de ácido láctico o su sal en el paso (i).

46. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 42, caracterizado en que las temperaturas respectivas de la tercera solución y la cuarta solución en la preparación de la emulsión aceite/agua se ajustan a aproximadamente de 15 a aproximadamente 35 °C.

47. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza o en que se agrega un ácido graso o una de sus sales adicionalmente a la primera solución y/o a la segunda solución o a la tercera solución.

48. El procedimiento para la preparación de una

composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza en que un ácido graso o una de sus sales se disuelve en la segunda solución.

49. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa que se carga en la preparación de la tercera solución es de 17 a 50% en peso.

50. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa contenida es de 17 a 26% (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales.

51. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 50, el cual se caracteriza en que la cantidad de la sustancia fisiológicamente activa que se carga en la preparación de la tercera solución es de 19 a 38% en peso.

52. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 50, el cual se caracteriza en que la cantidad a de la sustancia fisiológicamente activa que se carga en la preparación de la tercera solución es de 20 a 23% en peso.

53. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza por mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre o durante un período aproximadamente de 60 días a 130 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

54. El procedimiento para la preparación de una composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 42, el cual se caracteriza por mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

55. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que la relación entre la concentración máxima de un ingrediente activo en sangre dentro de 24 horas después de la administración y una concentración promedio del ingrediente activo en sangre durante un período a partir de las 24 horas hasta un mes después de la administración es de 2 a 50.

56. La composición de liberación sostenida de acuerdo

con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, el cual se caracteriza en que e una relación entre la concentración máxima de un ingrediente activo en sangre dentro de 24 horas después de la administración y una concentración promedio del ingrediente activo en sangre por un período de un mes a tres meses después de la administración es de 20 a 350.

57. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva de concentración en sangre-tiempo (AUC) de un ingrediente activo dentro de 24 horas después de la administración calculada a partir de la concentración en sangre es del 3% al 30% de la AUC total.

58. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva de concentración en sangre-tiempo (AUC) de un ingrediente activo por un período a partir de las 24 horas hasta un mes después de la administración, calculada a partir de la concentración en sangre, es de 40% a 80% de la AUC total, y tiene un perfil excelente de liberación sostenida.

59. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, la cual se caracteriza en que el área debajo de la curva de concentración en sangre a-tiempo (AUC) de un ingrediente activo durante un período de un mes a tres meses después de la administración es de 10% a 35% de la AUC total, y tiene un perfil excelente de liberación sostenida.

60. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que la relación entre la concentración máxima de un ingrediente activo en sangre dentro de las 24 horas después de la administración y una concentración en sangre promedio del ingrediente activo durante un período de 24 horas a un mes después de la administración es de 10 a 90.

61. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que la relación entre la concentración máxima de un ingrediente activo en sangre dentro de 24 horas después de la administración y la concentración en sangre

promedio del ingrediente activo durante un período de un mes a seis meses después de la administración es de 20 a 500.

62. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000,
La cual se caracteriza en que el área bajo la curva de concentración en sangre -tiempo (AUC) de un ingrediente activo dentro de las 24 horas después de la administración calculada, a partir de la concentración en sangre, es del 1% al 20% de la AUC total.

63. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual se caracteriza en que el área bajo la curva de concentración en sangre -tiempo (AUC) de un ingrediente activo para un período a partir de 24 horas hasta un mes después de la administración, calculada a partir de la concentración en sangre, es de 10% a 50% de la AUC total, y tiene un excelente perfil de liberación sostenida.

64. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, la cual

se caracteriza porque el área bajo la curva de concentración en sangre-tiempo (AUC) de un ingrediente activo para un período a partir de un mes hasta seis meses después de la administración es de 40% a 90% de la AUC total, y tiene un excelente perfil de liberación sostenida.

65. Una composición farmacéutica comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1.

66. Un agente profiláctico o terapéutico para cáncer de próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea, o cáncer de mama, o un agente anticonceptivo, que comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1.

67. Un agente profiláctico para la recurrencia postoperatoria del cáncer de mama premenopáusico, que comprende la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1.

68. Un método para prevenir o tratar cáncer de próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea, o cáncer de mama, o un método anticonceptivo, que comprende la administración a un mamífero de r una cantidad efectiva de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la

reivindicación 1.

69. Un método para prevenir la recurrencia postoperatoria del cáncer de mama premenopáusico, que comprende la administración a un mamífero de una cantidad efectiva de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1.

70. El método de acuerdo con la reivindicación 68 o la reivindicación 69, caracterizado en quela composición de liberación sostenida es preparada por un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 42 a 54.

71. El uso de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, para la elaboración de un agente profiláctico o terapéutico para cáncer de próstata, hiperplasia prostática, endometriosis, fibroide uterino, fibroma uterino, pubertad precoz, dismenorrea o cáncer de mama, o un agente anticonceptivo.

72. El uso de la composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, para la elaboración de un agente profiláctico para la recurrencia postoperatoria del cáncer de mama premenopaúsico.

RESUMEN

Composiciones de liberación sostenida en donde un péptido fisiológicamente activo soluble en agua es dispersado en forma sustancialmente uniforme en una microcápsula compuesta por un polímero de ácido láctico o una de sus sales, y la sustancia fisiológicamente activa está contenida en una cantidad de 15 a 35% p/p con respecto a las microcápsulas totales y el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.000 a aproximadamente 27.000, las cuales se caracterizan por tener un alto contenido de la sustancia fisiológicamente activa, y por la supresión de la liberación inicial excesiva dentro de un día después de la administración y por una liberación sostenida estable del fármaco durante un período de tiempo prolongado, y un método para producirlas.

Fig. 1

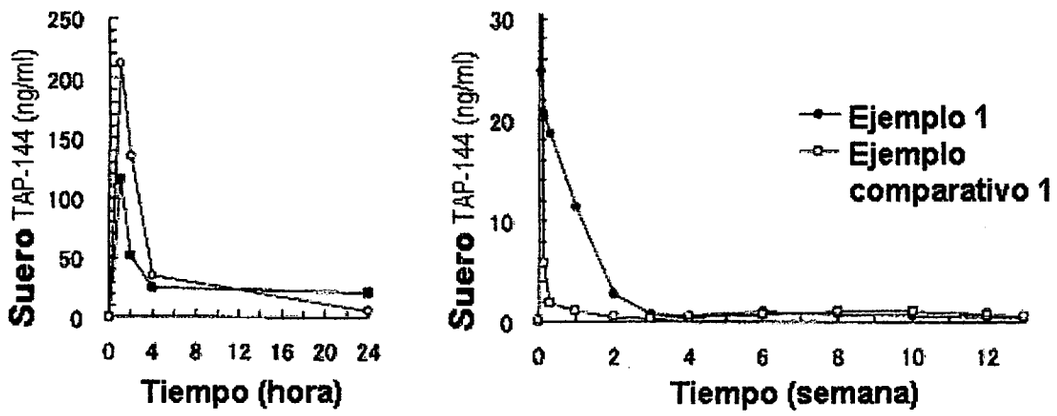

Suero TAP-144 (ng/ml)
250
200
150
100
50
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (hora)
Suero TAP-144 (ng/ml)
30
20
10
0
0 2 4 6 8 10 12
Tiempo (semana)
Ejemplo 1
Ejemplo comparativo 1

Fig. 2

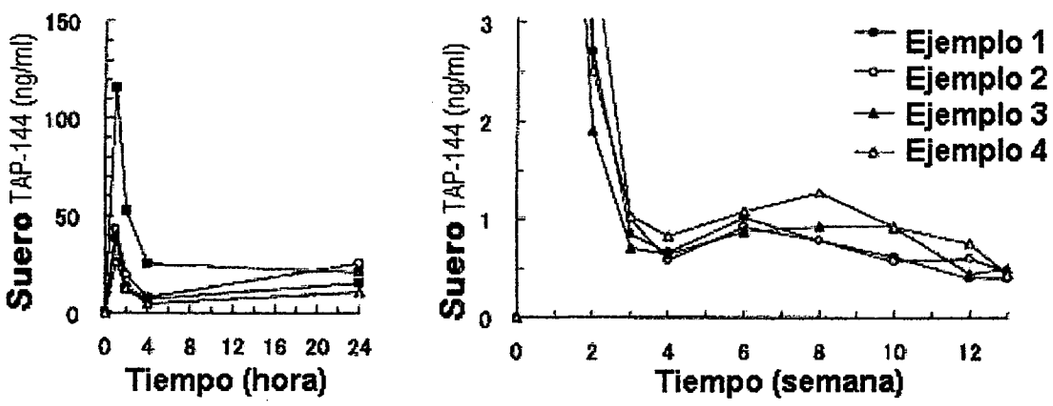

Suero TAP-144 (ng/ml)
150
100
50
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (hora)
Suero TAP-144 (ng/ml)
3
2
1
0
0 2 4 6 8 10 12
Tiempo (semana)
Ejemplo 1
Ejemplo 2
Ejemplo 3
Ejemplo 4

Fig. 3

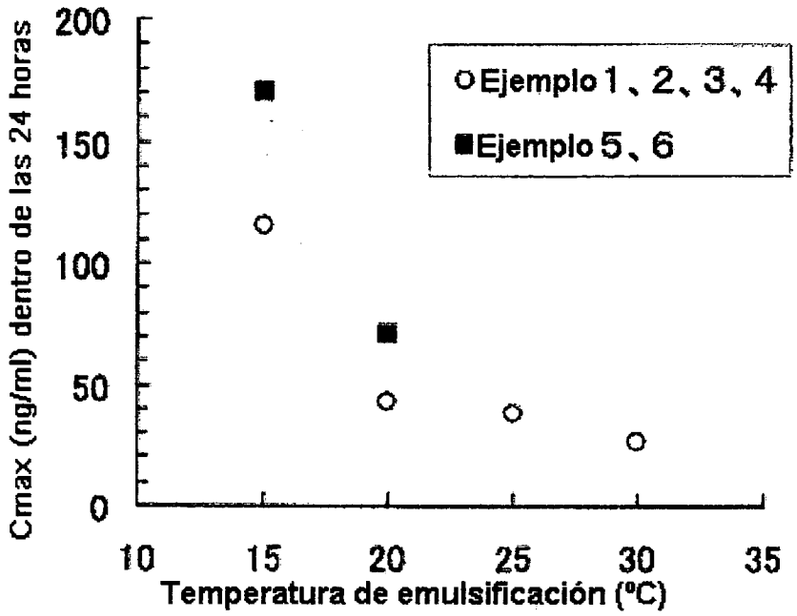

Cmax (ng/ml) dentro de las 24 horas
200
150
100
50
0
10
15
20
25
30
35
Temperatura de emulsificación (ºC)
Ejemplo 1、2、3、4
Ejemplo 5、6

Fig. 4

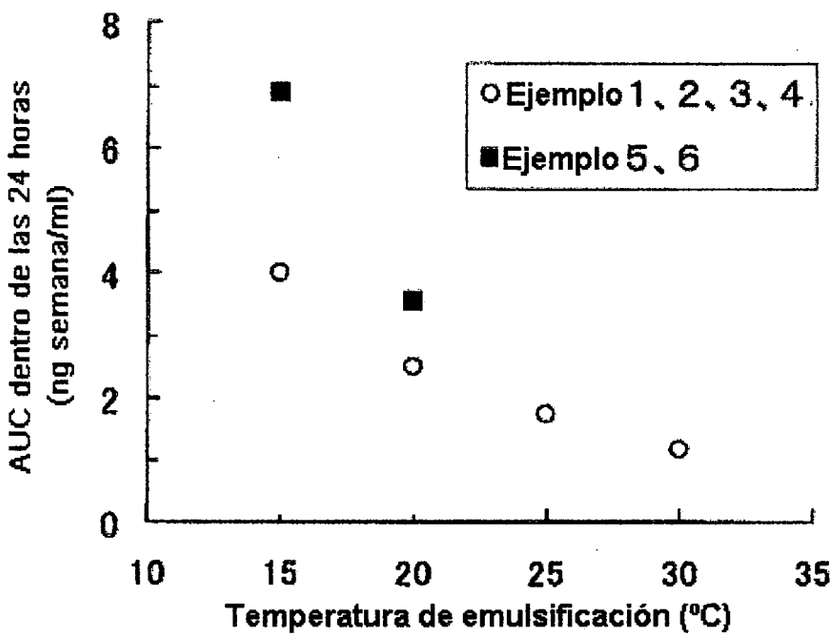

AUC dentro de las 24 horas
(ng semana/ml)
8
6
4
2
0
10
15
20
25
30
35
Temperatura de emulsificación (ºC)
Ejemplo 1、2、3、4
Ejemplo 5、6

Fig. 5

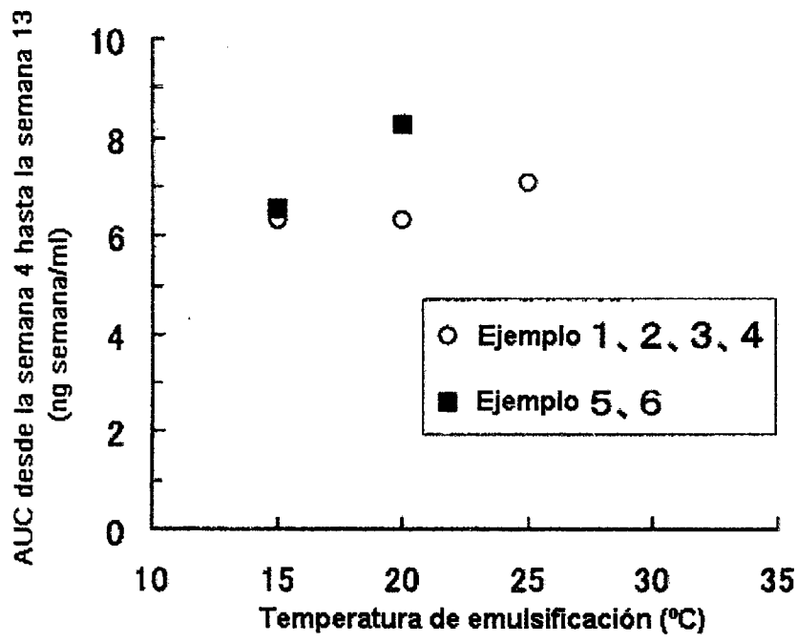

AUC desde la semana 4 hasta la semana 13 (ng semana/ml)
10
8
6
4
2
0
10
15
20
25
30
35
Temperatura de emulsificación (°C)
Ejemplo 1、2、3、4
Ejemplo 5、6

Fig. 6

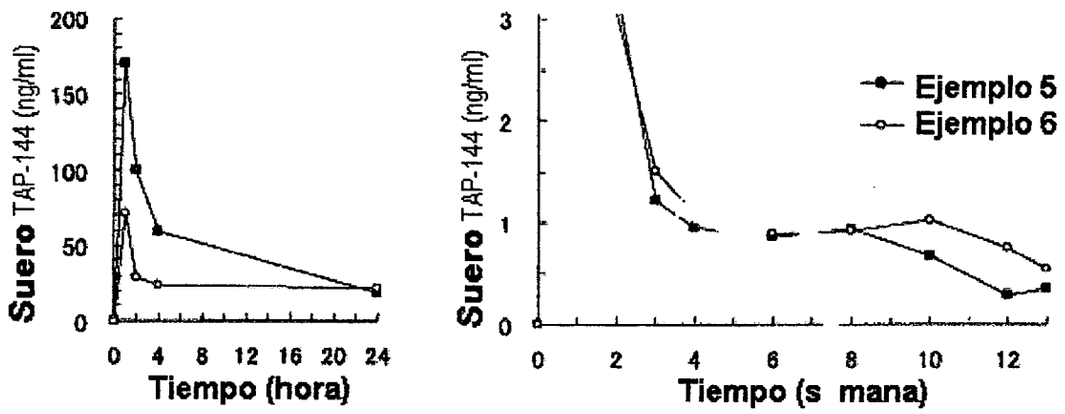

Suero TAP-144 (ng/ml)
200
150
100
50
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (hora)
Suero TAP-144 (ng/ml)
3
2
1
0
0 2 4 6 8 10 12
Tiempo (s mana)
Ejemplo 5
Ejemplo 6

Fig. 7

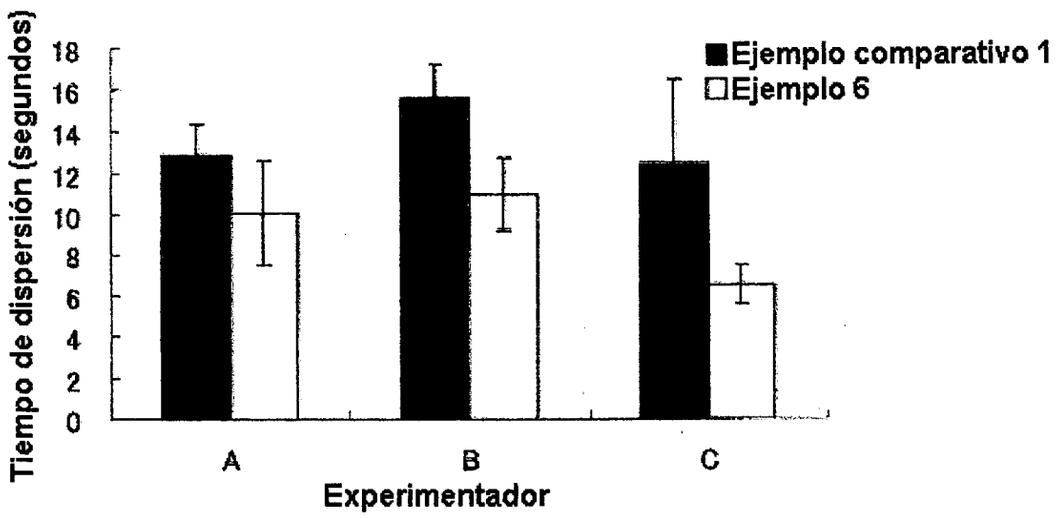

Tiempo de dispersión (segundos)
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
A
B
C
Experimentador
Ejemplo comparativo 1
Ejemplo 6

Fig. 8

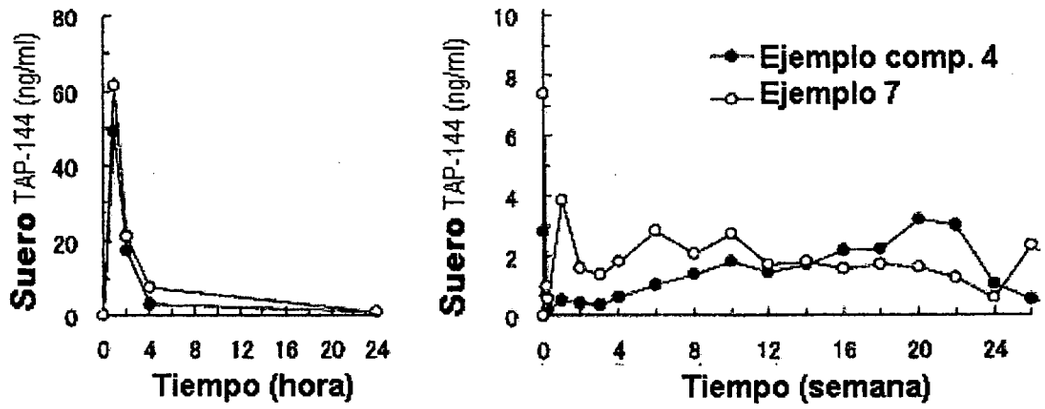
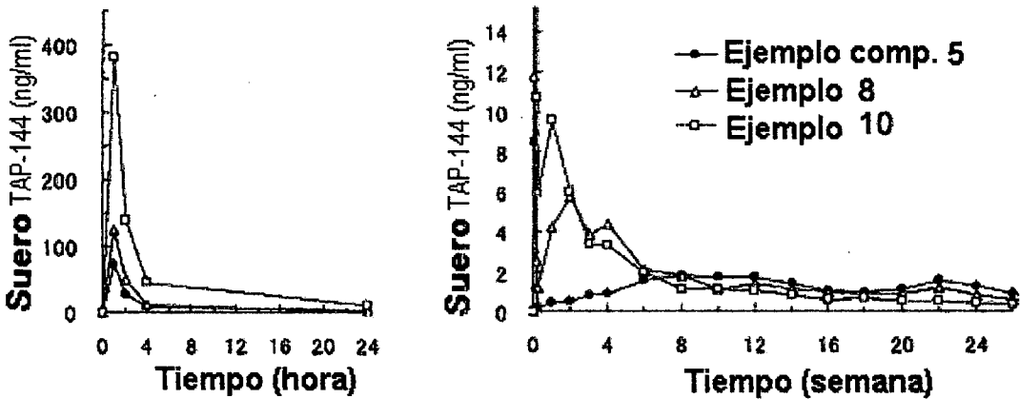

Suero TAP-144 (ng/ml)
80
60
40
20
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (hora)
Suero TAP-144 (ng/ml)
10
8
6
4
2
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (semana)
Ejemplo comp. 4
Ejemplo 7

Fig. 9


Suero TAP-144 (ng/ml)
400
300
200
100
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (hora)
Suero TAP-144 (ng/ml)
14
12
10
8
6
4
2
0
0 4 8 12 16 20 24
Tiempo (semana)
Ejemplo comp. 5
Ejemplo 8
Ejemplo 10

-300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/JP2007/074617

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K9/16 A61K31/55

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 048 301 A (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD [JP]) 2 November 2000 (2000-11-02) page 2, paragraph 7 page 3, paragraphs 7,8 page 4, paragraph 15-18 page 5, paragraph 20-26 page 6, paragraph 28-33 page 7, paragraph 39 page 9, paragraph 65-71 page 11 - page 15	1-67

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
14 May 2008	04/06/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Raposo, Antonio

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Claims Nos.: 68-72

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

---

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: -

1. The present claim 1 relates to an extremely large number of possible compositions. Support and disclosure in the sense of Article 6 and 5 PCT is to be found however for only a very small proportion of the compositions claimed (see page 26, example 1). The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search of claim 1 (PCT Guidelines 9.19 and 9.23). Therefore, the search of claim 1 was restricted to those claimed compositions which appear to be supported in the description.

2. The below mentioned claims relate to a product defined by reference to a parameter:

I- (Claims 3-4, 54-56, 60-61): Drug blood level/Average drug blood concentration;
II- (Claims 57-59, 62-64): blood concentration-time curve.

The use of these parameters in the present context is considered to lead to a lack of clarity because the claims do not clearly identify the products encompassed by it as the parameters cannot clearly and reliably determined by indications in the description or by objective procedures that are usual in the art. This makes impossible to compare the claims to the prior art. As a result, the application does not meet the requirements of Article 6 PCT. Specifically, the drug blood level/average drug blood concentration or the blood concentration-time curve does not seem to be appropriate the delimit the subject-matter with respect to the prior art. The search of claims was restricted to the compositions which present a sustained release profile comprising a therapeutically effective amount of an active compound selected from an active peptide and a lactic acid polymer or salt thereof.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2)PCT declaration be overcome.

311

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/074617

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.: 68-72
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

2. [X] Claims Nos.: -
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/JP2007/074617

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1048301 A	02-11-2000	AU 758596 B2	27-03-2003
		AU 1889799 A	02-08-1999
		BR 9906903 A	12-12-2000
		CA 2316273 A1	22-07-1999
		CN 1288387 A	21-03-2001
		HR 20000471 A2	31-12-2000
		HU 0100221 A2	28-06-2001
		IS 5560 A	11-07-2000
		WO 9936099 A1	22-07-1999
		NO 20003530 A	14-09-2000
		NZ 505651 A	29-08-2003
		OA 11446 A	30-04-2004
		PL 341733 A1	07-05-2001
		RU 2230550 C2	20-06-2004
		SK 10272000 A3	18-01-2001
		TR 200002059 T2	22-01-2001
		US 6740634 B1	25-05-2004

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN PCT

(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl: **A61K 009/016**
22) Fecha de solicitud:	(71)Solicitante(s) **TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**
(30) Prioridad (31) ***Prioridad*** (32) ***Fecha*** (33) ***País*** **60/875,364 18/12/2006 US** **60/917,401 11/05/2007 US**	(72) Inventor(es) **TOMOMICHI FUTO Y OTROS**
	(74) Apoderado: **EMILIO FERRERO**
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 18/07/2009 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 17/12/2007 No. de solicitud PCT//JP2007/074617	(87) Publicación internacional Fecha: 26/06/2008 N° publicación: ***WO 2008/075762 A1***

(54) Titulo: **COMPOSICIÓN DE LIBERACIÓN SOSTENIDA Y MÉTODO PARA PRODUCIRLA**

Reivindicación(es):

1. Una composición de liberación sostenida en donde una sustancia fisiológicamente activa compuesta por un péptido fisiológicamente activo soluble en agua es dispersado en forma sustancialmente uniforme en una microcápsula compuesta por un polímero de ácido láctico o una de sus sales, en donde una sustancia fisiológicamente activa está contenida en una cantidad de 15 a 35 % (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales, y el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es aproximadamente de 11.000 a aproximadamente 27.000.

2. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es uno cualquiera seleccionado entre:
(i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000 y
(ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000.

3. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (i) aproximadamente de 11.600 a aproximadamente 20.000, que comprende mantener un nivel efectivo del fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 60 días a 130 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

4. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el peso molecular promedio en peso (Mp) del polímero de ácido láctico es (ii) aproximadamente de 19.000 a aproximadamente 27.000, que comprende mantener un nivel efectivo de fármaco en sangre durante un período aproximadamente de 120 días a 400 días por liberación in vivo de la sustancia fisiológicamente activa de la composición de liberación sostenida.

5. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un derivado de LH–RH.

6. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:
5–oxo–Pro–His–Trp–Ser–Tyr–Y–Leu–Arg–Pro–Z
en donde, Y representa DLeu, DAla, DTrp, DSer (tBu), D2Nal o DHis (ImBzl) y Z representa NH–C_2H_5 o Gly–NH_2, o una sal de estos.

7. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la sustancia fisiológicamente activa es un péptido de fórmula:
5–oxo–Pro–His–Trp–Ser–Tyr–DLeu–Leu–Arg–Pro–NH–C_2H_5
o uno de sus acetatos.

8. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada en que el contenido de la sustancia fisiológicamente activa contenida es de 17 a 26% (peso/peso) con respecto a las microcápsulas totales.

9. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 1, la cual se obtiene disolviendo el polímero de ácido láctico o su sal en un primer solvente volátil inmiscible en agua para preparar una primera solución,
la disolución de la sustancia fisiológicamente activa compuesta por el péptido fisiológicamente activo soluble en agua en un segundo solvente miscible en agua para preparar una segunda solución,
la mezcla de la primera solución resultante y la segunda solución resultante para preparar una tercera solución en la cual el polímero de ácido láctico o su sal y la sustancia fisiológicamente activa se disuelven en forma uniforme,
la dispersión de la tercera solución resultante en una cuarta solución compuesta por una solución acuosa de un emulsificante para preparar una emulsión aceite/agua, y
la eliminación del primer solvente y del segundo solvente de la microcápsula generada.

10. La composición de liberación sostenida de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada en que el solvente mixto, en el cual un tercer solvente miscible en agua se agrega adicionalmente al primer solvente, se usa como un solvente para disolver el polímero de ácido láctico o su sal en la preparación de la primera solución.

314

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-063558- -00000-0000

Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 39,959
FECHA : JUNIO 1 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111857745	01/06/2009	45,405,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL : $	540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Odo: 14656-841-050-1

315

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-063558- -00000-0000

Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 42,036
FECHA : JUNIO 8 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111846674	08/06/2009	55,819,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEMAS	688,000.00
		TOTAL : $	688,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

OOLO'_14656-841-050-1

316

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-063558- -00000-0000

Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 42,037
FECHA : JUNIO 8 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111846674	08/06/2009	55,819,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	3 PROC. REGISTRO DE MARCAS Y LEMAS	688,000.00
		TOTAL : $	688,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

0010: 14656-841-0504

377

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-063558- -00000-0000

Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 42,058
FECHA : JUNIO 8 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111846674	08/06/2009	55,819,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	25,000.00
		TOTAL : $	25,000.00

SON: VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

CODO: 14656-841-050-1

318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-063558- -00000-0000

Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 318

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 42,059
FECHA : JUNIO 8 DE 2009

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111846674	08/06/2009	55,819,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	25,000.00
		TOTAL : $	25,000.00

SON: VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

COLO 14656-84-050-1

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION [X] MODELO DE UTILIDAD [ ]

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [✓]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [✓]
- Descripción de la invención [✓]
- Dibujos de ser estos pertinentes [✓]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [✓]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Representación gráfica del esquema trazado [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

Firma Responsable

Fecha

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-063558- -00000-0000
Fecha: 2009-06-18 17:07:51 Dep: 2020 NUECREACIONI
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 318

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	9 63558
	Solicitud internacional	pct/jp2007/074617
	Fecha inicio fase nacional	18/07/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	9262

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo titulo que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el titulo relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 14 AGO. 2009
adpa11