

Prezenta invenție se referă la compoziții implantabile cu efect uniform și de lungă durată pentru administrare parenterală a unei doze de proteină, peptidă sau polipeptidă biologic active, și se poate utiliza în zootehnie la creșterea animalelor.

Este cunoscută o compoziție pentru administrarea uniformă a medicamentului în mediul de utilizare, care conține un miez ce include o substanță activă, și un înveliș, care conține materiale ce formează pori, ce permit compusului activ să penetreze din miez prin înveliș [1].

Dezavantajul compoziției cunoscute constă în perioada relativ scurtă de acțiune.

Este de asemenea cunoscut și un procedeu de obținere a unei compoziții osmotice [2], care include presarea compoziției medicamentoase într-o masă solidă, formarea unui canal în masa solidă, acoperirea masei solide cu un înveliș. Capsulele osmotice pentru uz peroral elimină preparatul medicinal timp de câteva ore.

Dezavantajul acestui procedeu constă în obținerea compoziției cu o perioadă relativ scurtă de acțiune a componentului activ.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în ameliorarea proprietăților compoziției implantabile, care permite de a susține nivele înalte de proteine, peptide sau polipeptide biologic active în sânge, și elaborarea unui procedeu de obținere a unor astfel de compoziții, care asigură o perioadă îndelungată de acțiune a lor.

Problema se rezolvă prin aceea că compoziția implantabilă pentru administrare parenterală ce include proteină, peptidă sau polipeptidă biologic active reprezintă o compoziție compactă cu o cavitate și parțial învelită, conținând de la unu până la trei straturi, fiecare din ele raportat la masă, de la 20 până la 80% de proteină, peptidă sau polipeptidă biologic active, de la 10 până la 75% de grăsime sau ceară, sau un amestec al acestora, de la 0 până la 20% de tampon sau sare, sau un amestec al acestora, și de la 0 până la 25% de zahăr, în care cavitatea este neacoperită și joacă rolul unei căi de trecere pentru proteina, peptida sau polipeptida biologic active.

Proteina, peptida sau polipeptida biologic active sunt selectate din grupa, care constă din somatotropine, somatomedine și factori de creștere, conținând somatotropine de porcine, ovine, cai, bovine, de păsări și umane, grăsimile sunt selectate din grupa care constă din trimiristatul de gliceril, tripalmitatul de gliceril, tristearatul de gliceril, tamponul este selectat din grupa care constă din borat de sodiu, carbonat de sodiu, fosfat de sodiu monobazic, fosfat de sodiu dibazic și amestecul acestora, zahărul este selectat din grupa care constă din glucoză, manoză, zaharoză, rafinoză, sorbitol, manitol și lactoză, învelișul conține unul sau două straturi semipermeabile și, neobligatoriu, compoziția mai conține un stabilizator, un compus tensioactiv sau amestecurile acestora.

Somatotropina de porcină este selectată din grupa ce conține E34rpST, I122L+E34 rpST și A6TS11R+E34 rpST.

În invenția prezentă tamponul este un amestec de fosfat de sodiu monobazic și fosfat de sodiu dibazic.

Materialul semipermeabil este un copolimer al unui ester de metacrilat, care conține, raportat la masă, de la 1 până la 20% de citrat de etil sau talc, iar grosimea fiecărui strat este cuprinsă între 0,0127 mm și 0,635 mm.

Cantitatea de proteină, peptidă sau polipeptidă biologic active prezentă în fiecare strat crește în direcția de la cavitate spre periferie.

Cea mai convenabilă compoziție implantabilă din invenția prezentă este de preferință compactă, cu o cavitate și parțial acoperită, care conține de la unu până la trei straturi, fiecare din ele conține, raportat la masă, de la 35 până la 70% de proteină, peptidă sau polipeptidă biologic active, de la 15 până la 50% de grăsime sau ceară, sau un amestec al acestora, de la 1 până la 10% de tampon sau o sare, sau un amestec al acestora, și de la 5 până la 15% de zahăr.

Sărurile potrivite pentru utilizare în compozițiile conform invenției includ așa săruri ca clorura de sodiu sau clorura de potasiu.

În compozițiile conform invenției pot fi incluse așa suplimente ca stabilizatori, conservanți, compuși tensioactivi sau amestecurile acestora. Stabilizatorii preferențiali includ acidul dihidroacetic, salicilanilida, acidul sorbic, acidul boric, acidul benzoic și sărurile acestora; hidroxipropilceluloza, hidroxipropilmetilceluloza, nitritul de sodiu și nitratul de sodiu. Cantitățile suplimentelor enumerate potrivite pentru utilizare variază de la 0,1 până la 20% față de masă.

Surprinzător s-a observat, că creșterea în sânge a conținutului de somatotropină poate fi obținută și menținută pentru o perioadă extinsă de timp prin implantarea animalelor a unei compoziții conform invenției prezente. Nivelurile ridicate în sânge a proteinei, peptidei sau polipeptidei biologic active au fost observate și asociate cu efectele folositoare sau/și terapeutice. Acestea includ mărirea ratei de creștere, îmbunătățirea eficienței hrănirii, micșorarea grăsimii corpului îmbunătățirea raportului dintre carnea macră și grăsime, creșterea mărimumi mușchilor și mărirea producției de lapte la animalele ce produc lapte. Menținerea nivelului ridicat în sânge este un semn al eliberării lente a ingredientului activ. Așa proprietăți ca sporul în greutate, mărirea ratei de creștere, îmbunătățirea eficienței hrănirii, creșterea cantității de carne macră și mărirea producției de lapte s-au observat în general, când ingredientul activ se menține în sânge la un nivel înalt. Invenția include utilizarea unei compoziții care mărește rata de creștere, îmbunătățește eficiența hrănirii, mărește cantitatea de carne macră la animale, îmbunătățește producția de lapte, micșorează și menține nivelul somatotropinelor în sângele animalelor.

Materialele semipermeabile utile pentru acoperirea compozițiilor presate și cu o cavitate conform prezentei invenții includ polimeri semipermeabili, așa ca copolimerii esterului metacrilic, polimerii etilcelulozei și alții asemănători. Așa suplimente ca plastifcatorii și materialele de umplutură pot fi adăugate la polimerii semipermeabili în cantități de la 1 până la 20% de masă, citratul de trietil și talcul fiind respectiv un plastifcator și material de umplutură

preferabile. Grosimea fiecărui înveliș, care acoperă compozițiile compacte și cu o cavitate, este de la circa 0,0127 mm până la 0,635 mm.

Deoarece compoziția implantabilă este compactă, cu o cavitate și parțial acoperită, proteina, peptida sau polipeptida biologic active se elimină în sânge nu imediat, dar uniform și continuu, menținându-se astfel un nivel înalt de aceste substanțe pe o perioadă îndelungată de timp.

Rezultatul invenției constă în creșterea duratei de eliberare uniformă și dozată a preparatului medicamentos în sânge, datorită căreia conținutul de proteine, peptide sau polipeptide biologic active se menține la nivele înalte pentru o perioadă de timp îndelungată.

Problema se rezolvă, de asemenea, prin aceea că procedeul de preparare a unei compoziții implantabile conform invenției constă în amestecarea proteinei, peptidei sau polipeptidei biologic active cu grăsime sau ceară topită, sau cu un amestec al acestora și neobligatoriu cu un tampon, sare sau zahăr pentru a forma un praf grosier, compactarea de la unu până la trei straturi de acest praf grosier și obținerea unei mase compacte, perforarea acestei mase compacte cu ajutorul ieșiturii conice până la formarea cavității conice, iar acoperirea masei compacte obținute se efectuează în așa mod încât să se formeze o trecere prin cavitate din masa compactă prin înveliș.

Compactarea prafului grosier în scopul formării unei mase compacte și perforarea ei se efectuează simultan.

Amestecarea proteinei, peptidei sau polipeptidei biologic active se efectuează prin dizolvarea peptidei sau polipeptidei biologic active și a tamponului sau a sării, sau amestecului acestora în apă pentru a forma o soluție; uscarea acestei soluții prin pulverizare până la formarea unei pudre uscate; dizolvarea ei în grăsime sau în ceară topită, sau într-un amestec al acestora până la formarea unui amestec omogen; răcirea amestecului omogen însoțită de formarea unui praf; comprimarea prafului pentru formarea unei mase comprimate și mărunțirea acestei mase până la obținerea unui praf grosier.

În urma faptului că în cadrul obținerii compoziției implantabile ea se acoperă cu un înveliș semipermeabil pentru substanța activă, substanța activă penetrează în sânge uniform într-o perioadă îndelungată de timp prin trecerea formată, neacoperită cu înveliș.

Rezultatul invenției constă în menținerea la nivel înalt a conținutului de proteine, peptide sau polipeptide biologic active în organismul animalelor pentru o perioadă îndelungată de timp.

Pentru a facilita înțelegerea invenției sunt prezentate următoarele exemple, care nu sunt limitative.

Exemplul 1

În tabelul 1 sunt prezentate compozițiile implantabile, obținute prin folosirea următoarelor materiale:

Tabelul 1

Somatotropină

- a. I122L + E34 rpST
- b. E34 rpST
- c. A6TS11R+E34 rpST
- d. CAM - rpST
- e. somatotropină de bovină

Grăsime sau ceară

- f. gliceril trimiristat
- g. gliceril tristearat

Zăhar

- h. zaharoză
- i. lactoză

Tampon

- j. amestec de sodiu monobazic și fosfat de sodiu dibazic (1:2)
- k. fosfat de sodiu dibazic
- l. borat de sodiu

Aditivi

- m. hidroxipropil celuloză

Învelișuri

- n. poli(etilacrilat, metilmetacrilat) (EUDRAGIT NE3OD), care conține 8% de masă de talc
- o. poli(etilacrilat, metilmetacrilat) (EUDRAGIT NE3OD), care conține 15% de masă de talc
- p. poli(etilacrilat, metilmetacrilat) clorură de trimetilamoniumetilmetacrilat (EUDRAGIT RL3OD), care conține 15% de masă de citrat de trietil
- q. poli(etilacrilat, metilmetacrilat) clorură de trimetilamoniumetilmetacrilat (EUDRAGIT RL83OD), care conține 15% de masă de citrat de trietil

EUDRAGIT® este marca

Exemplul 2

Prepararea compozițiilor implantabile pentru administrarea parenterală a somatotropinelor

1. Prepararea somatotropinei, zahărului, tamponului și aditivilor în limitele potrivite pentru încorporare în grăsime, ceară sau amestecul acestora prin uscarea la injecție poate fi efectuată prin dizolvarea somatotropinei și a

zahărului în apă, adăugarea soluției tampon dorite, cum este un amestec 1:2 de fosfat de sodiu monobazic și fosfat de sodiu dibazic. Așa aditivi ca hidroxipropilceluloza pot fi adăugați și lăsați să se dizolve. Apoi diluția se usucă prin pulverizare într-un miniuscător prin stropire Buch, modelul # 190.

2. Prepararea prafului grosier. Un amestec omogen de praf uscat se stropește în grăsime topită, ceară sau amestecul acestora și amestecul rezultat se răcește pentru obținerea prafului. Din praf se obțin pastile utilizând o presă pentru pastile de tipul Stokes, modelul #512 dotată cu perforatori de 1,59 cm (5/8 țoli) și matrice. Aceste pastile se mărunțesc utilizând o mașină Glen Miils MicrohammerMill pentru formarea unui praf grosier gras.

3. Prepararea compozițiilor compacte și incrustate. Compozițiile stratificate, compacte și cu o cavitate se fac cu o presă pentru o singură pastilă modelul Stokes #521 dotată cu o matriță de 3,97 mm (5/32 țoli) și cu un perforator special. Perforatorul are o adâncitură conică de 3 mm la linia centrală a lui. Baza adânciturii este de circa 1 mm. Pentru obținerea compozițiilor în straturi, compacte și incrustate, partea internă a prafului este plasată în matriță prima și se presează ușor, apoi se plasează praful grosier pentru incrustarea în matriță. Presarea se efectuează cu mâna, astfel fiecare implant se face pe rând. Pentru obținerea implanturilor uniforme, se utilizează o matriță de 3,18 mm (1/8 țoli) și un perforator special. Perforatorul are o adâncitură conică de 3 mm la linia centrală a lui și baza adânciturii este de circa 1 mm. Cantitatea necesară de praf grosier este plasată într-o matriță și compozițiile uniforme, compacte și incrustate se obțin manipulând presa cu mâna.

4. Prepararea compozițiilor implant parțial acoperite. Compozițiile compacte și cu o cavitate sunt acoperite cu unul sau două straturi de material polimeric semipermeabil utilizând un MINI HI-COATER (marca de fabrică Vector Laboratories). Suprafața în limitele incrustației rămâne în fond neacoperită și servește drept cale de trecere pentru ingredientul activ pentru ieșirea compoziției conform invenției într-o perioadă extinsă de timp.

Exemplul 3

Eliberarea susținută a compozițiilor conform invenției la porci

Porcii au fost divizați în grupe de câte patru animale. Pe tot parcursul testului toți porcii au fost alimentați cu același rațion, care conținea 20% proteină brută. Porcii nu au fost supuși tratării timp de trei zile și au fost obținute nivelurile de somatotropină de porcină în fiecare zi pentru fiecare grupă de animale. Atunci două implanturi, date în tabelul 1, au fost implantate în urechea fiecărui porc. Nivelul de somatotropină din sângele animalelor s-a determinat prin metode standard RIA în fiecare zi. Rezultatele acestui experiment, care sunt date în Tabelul 2, demonstrează eficacitatea compozițiilor conform invenției pentru mărirea și menținerea unui nivel înalt de somatotropină în sânge pentru o perioadă extinsă de timp.

Tabelul 1

Compoziții implantabile

Compoziția	Somatotropină /% /masă	Grăsime sau ceară /% /masă	Zahăr /% /masă	Tampon /% /masă	Sușpliment /% /masă	Masa de operare (mg)	Perforatorul / μ m	Stratul / μ m
1	a	f	h	j	-	3	p	n
SE	/35,0	/50,0	/12,5	/2,5	-	0	/2	/5
SI	/70,0	/17,6	/8,2	/4,1	0	0,8 μ m	27 μ m	
2	a	f	h	j	-	5	p	n
SE	/35,0	/50,0	/12,5	/2,5	-	0	/2	/5
SI	/70,0	/17,6	/8,2	/4,1	0	0,8 μ m	27 μ m	
3	a	f	h	j	-	3	p	n
SE	/35,0	/50,0	/12,5	/2,5	-	0	/2	/5
SI	/65,0	/23,5	/7,6	/3,8	0	0,8 μ m	27 μ m	
4	a	f	h	j	-	2	p	n
SE	/35,0	/50,0	/12,5	/2,5	-	0	/2	/5
SI	/65,0	/23,5	/7,6	/3,8	0	0,8 μ m	27 μ m	
5	a	f	h	j	-	5	p	n
SE	/40,0	/50,0	/7,5	/2,5	-	0	/2	/5
SI	/70,0	/17,6	/8,2	/4,1	0	0,8 μ m	27 μ m	
6	a	f	h	j	-	5	p	n

SE	/40,0 a	/50,0 f	/7,5 h	/2,5 j	-	0 8	/2 5	/5 1
SI	/65,0	/23,5	/7,6	/3,8		0	0,8 μm	27 μm
7 SE	a	f	h	j	m	1	p	n
SE	/40,0 a	/20,0 f	/20,0 h	/4,0 j	/16,0 -	0 1	/2 5	/5 1
SI	/55,0	/31,0	/10,3	/3,4		00	0,8 μm	27 μm
8 SE	a	f	h	j	m	2	p	n
SE	/40,0 a	/20,0 f	/20,0 h	/4,0 j	/16,0	0 1	/2 5	/5 1
SI	/55,0	/31,3	/10,3	/3,4		00	0,8 μm	27 μm
9 SE	a	f	h	j	m	2	p	n
SE	/35,0 a	/30,0 f	/17,5 h	/3,5 j	/14,0	0 1	/2 5	/5 1
SI	/55,0	/31,3	/10,3	/3,4		00	0,8 μm	27 μm
10 SE	a	f	h	j	-	5	p	-
SE	/40,0 a	/50,0 f	/7,5 h	/2,5 j	-	0 7	/2 5	
SI	/65,0	/18,7	/12,2	/4,1		0	0,8 μm	
11 SE	a	f	h	j	-	4	q	o
SE	/50,0 a	/37,5 f	/9,4 h	/3,1 j	-	0 8	/2,5 6	/6 1
SI	/60,0	/25,0	/11,3	/3,8		0	3,5 μm	52,4 μm
12 SE	a	f	h	j	-	4	p	n
SE	/45,0 a	/43,8 f	/8,4 h	/2,8 j	-	0 8	/1 2	/7 1
SI	/60,0	/25,0	/11,3	/3,8		0	5,4 μm	77,8 μm
13 SE	a	f	h	j	-	4	q	o
SE	/50,0 a	/37,5 f	/9,4 h	/3,1 j	-	0 8	/2 5	/6 1
SI	/60,0	/25,0	/11,3	/3,8		0	0,8 μm	52,4 μm
14 Uniformă	a	f	h	K	-	8	n	
Uniformă	/53,8	/31,2	/13,5	k/1,5		0	/5 1 27μm	
15 Uniformă	a	f	h	j	-	1	q	o
Uniformă	/55,0	/31,3	/10,3	/3,4		20	/2 2 5,4 μm	/6,5 1 65,1 μm
16 SE	c	f	-	j	-	4	q	o
SE	/50,0 c	/44,4 f	- -	/4,4 j	-	0 9	/1 2	/6,5 1
SI	/60,0	/33,3		1/1,1 j /5,3 1/1,3		0	5,4 μm	65,1 μm
17 SE	e	f	h	j	-	4	q	o
SE	/50,0 e	/37,5 f	/8,8 h	/2,9 j	-	0 8	/21 2	/6,5 1
SI	/60,0	/25,0	/11,3	/3,8		0	5,4 μm	65,1 μm

¹ SE = sfârșitul eliberării

² SI = sfârșitul intern

Tabelul 2

Mărimea medie a concentrației (ng/ml prin proba Radioimună) Pasmei rpST în experiențele pe porc						
T impul (z ile)	Compoziția					
	2	7	1	1	1	13
-3	1	1	0	1	2	2,5
-2	,9	,4	,5	,1	,8	
-1	0	2	2	4	2	3,8
	,9	,2	,6	,9	,4	
1	1	2	1	2	3	4,2
	,2	,3	,7	,4	,3	
2	6	5	4	1	3	1,4
	,6	,5	,9	,7	,0	
3	8	3	3	1	3	1,6
	,2	,5	5,2	,5	,5	
4	9	1	9	2	3	3,2
	,8	3,9	7,1	,6	,8	
5	6	1	6	1	3	2,4
	,3	1,3	0,9	,9	,2	
6	3	1	5	1	1	8,6
	,4	7,6	6,4	,5	8,9	
7	2	1	4	1	6	17,6
	0,1	6,2	74,8	1,2	1,2	
8	2	2	2	3	4	22,9
	6,4	0,6	42,6	,3	0,3	
9	2	2	1	1	3	41,3
	6,1	0,0	10,6	18,1	5,4	
10	5	1	7	8	1	43,0
	0,0	9,4	0,7	7,0	9,7	
11	4	2	4	5	3	55,0
	2,9	5,9	5,4	6,6	0,0	
12	2	3	8	4	1	32,5
	6,1	5,7	2,4	4,3	5,7	
13	1	3	4	3	2	35,3
	6,0	4,2	7,1	4,8	2,7	
14	2	2	5	4	6	25,0
	6,2	9,8	2,1	0,1	,7	
15	1	3	2	5	8	39,8
	9,9	1,4	8,8	4,4	,0	
16	1	2	2	2	4	20,0
	0,2	5,3	1,3	5,9	,8	
17	8	2	1	3	4	12,5
	,8	0,7	9,7	1,3	,7	
18	1	1	6	2	4	10,2
	3,4	0,5	,8	9,2	,9	
19	8	1	7	1	4	10,0
	,0	5,4	,8	8,5	,0	
20	3	3	1	1	3	5,3
	2,1	4,4	0,0	6,1	,8	
21	5	9	8	1	2	6,8
	,8	,4	,2	4,9	,8	
22	9	1	9	8	2	3,1
	,6	3,6	,9	,7	,7	
23	1	1	5	7	3	7,1
	5,1	1,2	,7	,4	5,6	

2	6	7	6	1	1	4,3
3	0,8	,1	,0	5,9	2,8	
2	4	7	1	1	4	4,4
4	,9	,6	2,6	1,2	,0	
2	8	7	5	5	2	3,4
5	,4	,0	,4	,4	,3	
2	8	6	4	5	2	6,8
6	,9	,6	,0	,3	,7	
2	6	7	4	8	5	6,5
7	,7	,3	,8	,6	,0	

Exemplul 4

Evaluarea dizolvării *in vitro* a implanturilor

Două implanturi au fost plasate într-o eprubetă din masă plastică, care conține 10 ml de soluție-tampon fosfat (pH 7,4, 100 mM NaCl, 50 mM Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, 0,2% azidă de Na), apoi eprubeta se plasează într-o baie marină în care temperatura apei se menține la 39°C. Eprubeta se menține în baia marină timp de două zile, apoi soluția se separă din eprubetă și se analizează somatotropina potrivit cu ajutorul cromatografiei lichide de înaltă performanță (CLHP), iar soluția se aruncă. O nouă soluție-tampon se adaugă în eprubetă și eprubeta se plasează în baia marină pentru încă trei zile și se analizează după cum s-a descris mai sus. Procedura s-a repetat de câteva ori, la diferite intervale de timp, până la terminarea experimentului. Tabelul 3 însumează viteza de eliminare a somatotropinei potrivite pentru diferite compoziții date în tabelul 1.

Tabelul 3

Viteza de eliminare (mg/zile)			
Zile	Compoziția		
	2	7	10
0-2	0,6	0,6	1,0
2-5	3,8	7,6	11,4
5-9	7,2	7,0	6,9
9-12	5,3	3,4	4,2
12-16	2,7	1,7	2,1
16-19	1,6	1,3	1,8
19-23	1,3	0,9	1,4
23-28	0,9	0,6	1,0

Urmând procedura de mai sus, însă efectuând analiza soluțiilor pentru somatotropinele potrivite la alte intervale diferite de timp decât cele descrise mai sus, s-au evaluat vitezele de eliminare, care sunt date mai jos în tabelele 4, 5 și 6.

Tabelul 4

Viteza eliminării (mg/zile)		
Zile	Compoziția	
	11	13
0-1	0,1	0,0
1-2	2,5	1,4
2-5	7,0	3,9
5-9	5,9	6,4
9-12	3,9	4,3
12-16	2,5	2,5
16-19	1,7	1,3

19-22	1,4	1,1
22-26	1,0	1,1
26-28	0,8	0,6

Tabelul 5

Viteza eliminării (mg/zile)	
Zilele	Compoziția
	12
0-1	0,5
1-3	2,0
3-7	5,1
7-10	7,1
10-14	3,9
14-17	1,9
17-21	1,3
21-24	0,9
24-28	0,7

Tabelul 6

Viteza eliminării (mg/zile)			
Zilele	Compoziția		
	15	16	17
0-1	0,0	0,0	0,0
1-2	2,2	0,7	0,7
2-5	1,5	3,0	3,3
5-9	3,9	4,4	4,5
9-12	4,6	4,1	2,6
12-16	2,4	2,3	1,1
16-20	1,5	1,6	0,7
20-23	0,9	1,2	0,4
23-26	0,9	1,1	0,3

Adăugător, urmând procedura de mai sus, însă utilizând trei implanturi, se obțin vitezele de eliminare, care sunt date în tabelul 7.

Tabelul 7

Viteza eliminării (mg/zile)	
Zilele	Compoziția
	14
0-1	0,0
1-4	1,4
4-7	3,9
7-11	4,7
11-14	3,3
14-18	1,9
18-21	1,5
21-34	0,8

