



## SUOMI-FINLAND

(FI)

### Patentti- ja rekisterihallitus Patent- och registerstyrelsen

## (B) (11) KUULUTUSJULKAISU UTLAGGNINGSSKRIFT

86142

C (15) Patentti myönnetty  
Patent beviljadt 27 07 1988  
(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

A 61K 9/107

(21) Patentihakemus - Patentansökning	863664
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	10.09.86
(24) Alkupäivä - Löpdag	10.09.86
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	12.03.87
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.04.92
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
11.09.85 US 774762 P	

(71) Hakija - Sökande

1. American Cyanamid Company, One Cyanamid Plaza, Wayne, N.J. 07470, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Desai, Narendra Raghunathji, Hillcroft No. 11H, Clapboard Ridge Road, Danbury, Conn. 06810, USA, (US)
2. Ganesan, Madurai, 20 Country Club Lane, Pomona, N.Y. 10970, USA, (US)
3. Carpentier, Eugene Albert, 20 Decatur Avenue, Spring Valley, N.Y. 10977, USA, (US)
4. Shinal, Edward Charles, 19 Churchill Road, Old Tappan, N.J. 07675, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

**Menetelmä homogenisoidun farmaseuttisen emulsion valmistamiseksi**  
**Förfarande för framställning av en homogeniserad farmaceutisk emulsion**

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

-----

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee emulsioformulaatioita, joiden avulla voidaan välttää tiettyjen veteen niukkaliukoisten, hydrofobisten, ionisoituvien lääkeaineiden laskimonsisäiseen antoon liittyvät, nisäkkäillä esiintyvät injektio kohdan haitalliset reaktiot. Näiden emulsiokoostumusten avulla aikaansaadaan solubilisoitu lääkeainemuoto, joka sopii oraaliin, parenteraaliseen ja intra-artikulaariseen käyttöön ja joka parantaa lääkeaineen absorboitumista ja terapeuttista tehoa. Keksinnön mukainen koostumus sisältää hydrofobista lääkeainetta, farmaseuttisesti hyväksyttävää öljymäistä kantoainetta tai öljyä, joka on luonnossa esiintyvä kasviöljy tai puolisynteettinen mono-, di- tai triglyseridi, pinta-aktiivista ainetta tai emulgaattoria, vettä sekä ioniparin muodostajaa, joka on emäksisille lääkeaineille alifaattinen tai aromaattinen C<sub>6-20</sub>-karboksyylihappo ja happamille lääkeaineille alifaattinen tai aromaattinen amiini kuten glukamiini tai sen homologi.

86142

Uppfinningen avser emulsionskompositioner, med vilka endel oförmånliga reaktioner på injektionsstället kan elimineras vid intravenös administration av endel i vatten svårslösliga, hydrofoba, joniserbara läkemedel hos däggdjur. Med tillhjälp av dessa emulsionskompositioner erhålls en solubiliserad läkemedelsform, vilken lämpar sig för oral, parenteral eller intraartikulär administration och vilken ökar läkemedelsabsorptionen och den terapeutiska effekten hos läkemedlet. Kompositionen enligt uppfinningen innehåller ett hydrofobiskt läkemedel, en farmaceutiskt godtagbar, oljeartad bärarsubstans eller olja i form av en i naturen förekommande vegetabilisk olja eller en halvsyntetisk mono-, di- eller triglycerid, ett ytaktivt medel eller en emulgator, vatten och en jonparbildare, vilken i basiska läkemedel består av en alifatisk eller aromatisk  $C_{6-20}$ -karbonsyra och i sura läkemedel av en alifatisk eller aromatisk amin, såsom glukamin eller en homolog till denna.

Menetelmä homogenisoidun farmaseuttisen emulsio-  
n valmistamiseksi

5 Keksintö koskee menetelmää homogenisoidun farma-  
seuttisen emulsio-  
n valmistamiseksi.

Aikaisemmin emulsiosysteemeistä on käytetty annos-  
tusmuotoina, tavallisesti öljyjen oraalista antamista  
varten tai ulkonaisesti käytettävien tuotteiden tai kos-  
meettisten aineiden muotona. Nykyään emulsioita käytetään  
10 myös parenteraalisena lääkkeiden antomuotoina. Julkaisus-  
sa Pelham, L.D., Am. J. Hosp. Pharm., 38 (1981), s 198-  
208, esitetään parenteraalisen kokonaisravitsemisen (TPN)  
olleen yksi tärkeimmistä edistysaskeleista potilaan  
akuuttihoitossa kuluneena vuosikymmenenä. Se on tapa ra-  
vita intravenöösisti potilaita, jotka eivät pysty absor-  
15 boimaan ravintoaineita gastrointestinaalialueen kautta.  
Infuusiona annettuihin ravintoaineisiin voi sisältyä ami-  
nohappoja, dekstroosia, elektrolyyttejä, mineraaleja, vi-  
tamiineja, rasvahappoja ja hivenainemineraaleja.

20 Kuten L.D. Pelham esittää edellä mainitussa viite-  
julkaisussa, intravenöösisti käytettäviä rasvaemulsioita  
on ollut kaupallisesti saatavana Euroopan maissa yli 20  
vuotta, vaikka niiden käyttöä Yhdysvalloissa on rajoitet-  
tu viime aikoihin saakka vaikeiden ja eräissä tapauksissa  
25 kuolemaan johtaneiden reaktioiden vuoksi kuten on esitet-  
ty julkaisuissa Br. J. Surg., 52 (1965), s 795-800, ja  
Drug Intell. Clin. Pharm., 6 (1972), s 321-330. Lipomul<sup>®</sup>,  
ensimmäinen Yhdysvaltoihin tuotu intravenöösisti käytet-  
tävä rasvaemulsio poistettiin markkinoilta 1965 sen jäl-  
30 keen, kun oli esitetty useita ilmoituksia "rasvaylikuor-  
mitusoireyhtymästä" (fat overloading syndrome), kuten on  
kuvattu julkaisuissa Br. J. Surg., 52 (1965), s 291-298,  
ja Metabolism, 6 (1957), s 815-821. Intralipid<sup>®</sup>, jota  
toimittaa Cutter Laboratories, hyväksyttiin käyttöön Yh-  
35 dysvalloissa 1975. Sitä oli aikaisemmin käytetty useita  
vuosia Euroopassa. Vuonna 1979 Abbot Laboratories toi  
markkinoille tuotteen Liposyn<sup>®</sup>, toisen intravenöösisti  
käytettävän rasvaemulsio-  
n.

Intralipid<sup>®</sup> ja Liposyn<sup>®</sup> sisältävät monityydyttämättömien rasvahappojen lähteinä 20 % (paino/tilavuus) soijaöljyä ja vastaavasti 10 % (paino/tilavuus) safloriöljyä. Kumpikin tuote sisältää 1,2 % (paino/tilavuus) puhdistettuja munan fosfolipidejä emulgointiaineina ja vettä on lisätty, niin että on saatu 10-prosenttinen (paino/tilavuus) tai 20-prosenttinen (paino/tilavuus) emulsio. Viime aikoihin saakka Yhdysvalloissa on ollut saatavana vain 10-prosenttisiä emulsioita. Euroopassa pääosa käytöstä koostuu 20-prosenttisistä emulsioista julkaisussa Surg. Clin. North Am., 58 (1978), s 1055-1070, esitetyn artikkelin mukaan. Glyserolia, vesiliukoista ainetta, on lisätty rasvaemulsioiden tekemiseksi isotoniseksi sen määrän ollessa tuotteessa Intralipid<sup>®</sup> 2,25 % (paino/tilavuus) ja tuotteessa Liposyn<sup>®</sup> 2,5 % (paino/tilavuus). Koska rasva aiheuttaa erittäin pienen osmoottisen paineen, glyseroli aiheuttaa kaksinkertaisen osmoottisen paineen kuten yhtäsuuri painomäärä glukosia, mannitolia tai sorbitolia julkaisun N. Engl. J. Med., 297 (1977), s 1444-1452 mukaan. Sekä tuotteen Intralipid<sup>®</sup> että tuotteen Liposyn<sup>®</sup> pH-alue on 5,5-8; rasvahiukkasten halkaisijat vaihtelevat Intralipid<sup>®</sup>:ssä ja Liposyn<sup>®</sup>:ssä 0,1 µm:stä 0,5 µm:iin ja ovat siten vähän pienempiä kuin endogeeniset kylomikronit, kuten on esitetty useissa julkaisuissa mm julkaisussa Metabolism, 27 (1978), s 1109-1127.

1970-luvun alusta lähtien useimmat kirjallisuudessa esitetyt rasvaemulsioiden aiheuttamiksi katsotut vastareaktiot koskivat Intralipid<sup>®</sup>:n käyttöä yksinkertaisesti siksi, että se oli ainoa kaupallisesti saatava rasvaemulsio. Ajan myötä voi ilmestyä raportteja myös tuotteen Liposyn<sup>®</sup> aiheuttamista saman kaltaisista vastareaktioista. Tuotteen Intralipid<sup>®</sup> ja Liposyn<sup>®</sup> näyttävät aiheuttavan merkittävästi vähemmän ja lievempiä vastareaktioita kuin Lipomul<sup>®</sup>, kun on esitetty julkaisuissa Can. Med. Assoc. J., 111 (1974), s 152-154, ja Liposyn<sup>®</sup> Research

Conference proceedings, North Chicago, Abbot Laboratories (1979). Nykyään esitetyt vaikeimpia vastareaktioita kuvaavat artikkelit liittyvät yliannostuksiin, kuten on esitetty julkaisussa Arch. Surg., 111 (1976), s 1391-1393.

Rasvaemulsiofuusioihin liittyy kahden tyyppisiä vastareaktioita. Ensimmäinen tyyppi on tavallisesti akuutti tai lievä ja esiintyy infuusion aikana. Toinen tyyppi ilmenee myöhemmin rasvaemulsion intravenöösien käytön kestoa pidennettäessä. Yleisimmin raportoituihin akuutteihin reaktioihin kuuluvat kuumevaste, vilunväreet ja tärinä sekä kipu rinnassa tai selässä, joita on kuvattu julkaisussa J. Pediatr., 86 (1975), s 2-16. Hyvin nopeat infuusiot voivat julkaisun Br. J. Surg., 52 (1965), s 291-298 mukaan aiheuttaa sydämentykytystä, tiheälyöntisyyttä, äkillistä ahdistusta rinnassa, vinkuvaa hengitystä, syanoosia, pahoinvointia, kipua injektiokohdassa, öljyisen maun tuntumista ja päänsärkyä. Viime vuosina intravenöösit rasvaemulsiot, joita aluksi käytettiin olennaisten rasvahappojen lähteenä, ovat tulleet suosituimmiksi energialähteenä kuten on kuvattu julkaisuissa US-patentti nro 3 169 094 ja Yeo, M. T. et al., Arch. Surg., 106 (1973), s 792-796. Jeppsson, R. ja Ljungberg, S. ovat käsitelleet aihetta julkaisussa Acta Pharmacol. et Toxicol., 36 (1975), s 312-320. Ljungberg ja Jeppsson tutkivat farmakodynaamisia vaikutuksia, joita liittyi emulsioiden käyttöön kantoaineina lipideihin liukeneville aineille. Vaikutuksia tutkittiin sen jälkeen, kun oli annettu parenteraalisesti soijaöljyemulsioita, jotka sisälsivät eri lääkaineita liuotettuina öljyfaasiin. Tutkitut lääkkeaineet olivat barbituurihappoja, syklandelaattinitroglyseriini ja diatsepaami. Tulokset osoittivat, että emulsiovalmisteet olisivat sopivia kantoaineita lipideihin liukeneville lääkkeaineille, jotka on tarkoitettu suonensisäiseen antoon, koska farmakologiset vaikutukset olivat lähes samat kuin vaikutukset, jotka todettiin käytettäessä natriumsuolojen vesiliuoksia. Käytettäessä barbituurihappoja soijaemulsion öljyfaasissa havaittiin anes-

tesian piteneminen siihen verrattuna, joka todettiin käytettäessä vastaavan natriumsuolan liuosta. Tulokset tulokittiin lääkeaineen hitaaksi vapautumiseksi öljyhiukkasista tai mahdolliseksi lääkeaineiden spesifisemmäksi siirtymiseksi keskushermostoon, kun ne sisältyvät pieniin öljypisaroihin [Jeppsson, R., Acta Pharmaceutica Suecica, 9 (1972), s 81-90]. Julkaisussa Dardel, O. et al., Anaesth. Scand., 20 (1976), s 221-224 on esitetty kaupallisen diatsepaamiemulsion olevan saatavana. Tämän lipidiemulsioformulaation valmistaja on Vitrum AB, Ruotsi, ja se on monessa suhteessa samankaltainen kuin Intralipid®. Uuden lipidiemulsiomuodon on todettu merkittävästi pienentävän venöosiin systeemiin liittyvien paikallisten sivuvaikutusten esiintymistiheyttä eikä diatsepaamin eri valmistemuotojen terapeuttisten tehojen välillä havaittu merkittäviä eroja.

Esillä oleva keksintö koskee menetelmää homogenisoidun farmaseuttisen emulsion valmistamiseksi. Menetelmälle on tunnusomaista, että

(a) muodostetaan ionipari saattamalla hydrofobinen lääkeaine reagoimaan ioniparin muodostajan kanssa, joka on tyydyttynyt tai tyydyttymätön alifaattinen tai aromaattinen C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>-happo, kun hydrofobinen lääkeaine on emäksinen, ja farmaseuttisesti hyväksyttävä alifaattinen tai aromaattinen amiini, kun hydrofobinen lääkeaine on hapan;

(b) muodostetaan mainitun ioniparin öljy-vedessä-emulsio yhdistämällä siihen vesi, farmaseuttisesti hyväksyttävä öljyinen kantoaine tai öljy, joka on valittu (i) luonnossa esiintyvistä kasviöljyistä ja (ii) puolisynteettisistä mono-, di- tai triglyserideistä; pinta-aktiivinen aine tai emulgaattori; ja pinta-aktiivinen apuaine tai lisäemulgaattori; ja homogenisoidaan emulsio paineessa 55,16-103,43 MPa (8000-15000 psi) emulsion hiukkaskoon pienentämiseksi alueelle 0,170-0,5 mikrometriä.

Keksinnön mukaisesti saadaan ainekoostumuksia, jotka sisältävät nopeasti in vivo murtuvia, intravenöosisi, intramuskulaarisesti, intra-artikulaarisesti ja/tai oraalisesti käytettäviä, rasvaemulsiomuodossa ole-

via valmisteita, joihin sisältyy tiettyjen tyydyttyneiden tai tyydyttymättömien alifaattisten tai aromaattisten happojen, esim. kaproni-, kapriini- tai öljyhapon, ja aromaattisten happojen, esim. hydroksibentsoe- tai kanelihappojen ja niiden kaltaisten käyttö pinta-aktiivisena apuaineena ja/tai ioniparin muodostajana [Ioniparin muodostumisteoriaa ja -sovellutuksia on käsitelty seuraavissa julkaisuissa ja kirjallisuusviitteissä: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 264 (1969), s 55-75; J. Pharm. Pharmacol. Suppl., 28:75P (1976); J. Pharm. Pharmacol, 31 (1981), s 749-753; ja J. Pharm. Pharmacol., 36 (1984), s 45] ja jotka on suunniteltu siten, että ne solubilisoivat tiettyjä veteen niukkaliukoisia hydrofobisia ionisoituvia lääkeaineita ja tiettyjä veteen liukenemattomia hydrofobisia viskooseja öljymäisiä nesteitä ja/tai sellaisia emäksisiä lääkeaineita, joiden pKa-arvot ovat pienemmät tai lähes samat kuin fysiologinen pH, tai happamien lääkeaineiden ollessa kyseessä lääkeaine voi olla viskoosi öljymäinen neste tai kiinteä veteen liukenematon hydrofobinen happo, jonka ionisaatiovakio tai -vakiot voivat olla suuremmat tai lähes samat kuin fysiologinen pH.

Siten happamien lääkeaineiden (joiden pKa-arvot ovat pienemmät tai lähes samat kuin fysiologinen pH) tai emäksisten lääkeaineiden (joilla on suuremmat tai lähes samat pKa-arvot) ollessa kyseessä ne muuttuvat fysiologiseen ympäristöön vietyinä (esim. i v infuusiassa) molekyylimuodoiksi, joilla on huomattavasti pienemmät liukoisuudet. Tästä on seurauksena, että lääkeaineet saostuvat aiheuttaen mahdollisesti ärsyttävien yhdisteiden paikallisia suuria kasaumia.

pKa-arvot ovat molekyyille luontaisia ominaisuuksia, joita ei voida muuttaa tekemättä yhdisteen rakenteeseen kovalenttisia muutoksia. Jos yhdisteen esiklininisen farmaseuttisen kehittämisen jossakin myöhemmässä vaiheessa tehdään kovalenttisia muutoksia yhdisteen rakenteeseen, kemikaali katsotaan uudeksi kemialliseksi kokonaisuudeksi ja siten kaikki farmaseuttiset, farmakologiset, toksikologiset, farmakokineettiset ja muut bio-

logiset kokeet täytyy toistaa. Rakenteen muutoksen seurauksena on usein myös farmakologisen aktiivisuuden katoaminen tai väheneminen tai täydellinen muuttuminen.

Keksinnön mukaisesti saatavalla nopeasti murtuvala (eli nopeasti lääkeaineen luovuttavalla) emulsiolla vältetään lääkeaineiden paikallinen saostuminen tekemättä kovalenttista muutosta ongelmana olevien lääkeaineiden rakenteeseen.

Hydrofobisten, veteen liukenemattomien happamien lääkeaineiden happofunktio voi johtua -COOH-ryhmästä, fenolisesta -OH-ryhmästä, -SO<sub>3</sub>H-ryhmästä tai aminohapporyhmistä tai niiden kaltaisista ryhmistä, jotka protonin luovuttaen muodostavat anioneja tai kahtaisioneja. Tässä tapauksessa farmaseuttisestisesti hyväksyttävää amiinia kuten glukamiinia voidaan käyttää ioniparin muodostamiseen, esimerkiksi N-metyyli-D-glukamiinia ja sen homologeja, joilla on kaava R-NH-CH<sub>2</sub>(CHOH)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>OH, jossa R on vety tai C<sub>1-6</sub>-alkyyli. Esimerkki hydrofobisen happaman lääkeaineen ja amiinin välisestä ioniparin muodostumisesta toteutettiin yhdistämällä yhdiste 4-bifenyylietikkahappo (tunnettu analgeettinen ja tulehdusten vastainen aine, joka on kuvattu US-patenteissa 3 784 704 ja 3 991 206) N-metyyli-D-glukamiiniin, joka oli liuotettu emulsion öljyfaasiin (kasvisöljy, soija- tai munalesitiini ja emulsiota stabiloivia pinta-aktiivisia aineita) ja muodostamalla öljy-vedessä-emulsio. Tätä formulaatiota on ehdotettu lihas- tai nivelruiskeisiin. Joitakin tämän tyyppisestä formulaatiosta johtuvia etuja ovat seuraavat: estetään lääkeaineen saostuminen kiteinä ja kivun aiheutuminen injektiokohtaan tai pehmeisiin kudoksiin, jotka liittyvät tulehdykselliseen artriittiin; aikaansaadaan lääkeaineen hidas ja pitkään jatkuva vapautuminen paikallisessa patologisessa kohdassa; ja estetään immunologisten, artriittia muistuttavien tulehduksellisten vasteiden ilmeneminen. Tiedetyt kasvainten vastaiset aineet kuten bis-(3-imidatsolen-2-yylihydratsoni)-9,10-antraseenidikarboksaldehydi (kuvattu US-patentissa 4 258 181 ja seuraavassa kutsuttu nimellä bisantreeniemäs) ja adriamysiiniemäs, joka

on kuvattu US-patentissa 3 590 028, ja niiden kaltaiset ovat esimerkkejä emäksisistä hydrofobisista lääkeaineista, jotka voidaan solubilisoida tällä menettelyllä. Yhdiste 3-[4,6-bis-[(1,1,2,2-tetrametyyli)amino]-s-triatsin-2-yyli]-3-atsabisyklo[3.2.2]nonaani, jolla on  
 5 käyttöä antiartriittisena aineena ja joka on kuvattu US-patentissa 4 261 892, on myös veteen niukkaliukoinen hydrofobinen ionisoituva lääkeaine ja se voidaan myös menestyksellisesti formuloida rasvaemulsiokantoaineen kanssa.  
 10 Myös tätä solubilisoitua lääkeainetta voidaan antaa intravenöösisti ilman haitallisia sivuvaikutuksia.

Oletettavasti tässä kuvattuja emulsiosolubilisointisysteemejä voidaan soveltaa lukuisiin muihin lääkeaineisiin, joista jotkut ovat tunnettuja kaupallisia tuotteita ja toisen tuotteita, joita on kuvattu kirjallisuudessa, esim. triamtereeni, patenttijulkaisussa  
 15 US 3 081 230 (Smith, Kline & French, 1963) kuvattu diureetti; amfoterisiini B, antifungaalinen aine, Gold et al., Antibiot. Ann., 1955-1956, 579, tai patenttijulkaisu US 2 908 611 (Olin Mathieson, 1959); ibuprofeeni, tulehdustenvastainen aine, patenttijulkaisu US 3 385 886 (Boots Pure Drug Company Ltd., 1968); indometasiini, tulehdustenvastainen aine, patenttijulkaisu US 3 161 654 (Merck & Co., 1964); terfenadiini RMI-9918, antihistamiini, jolla ei ole keskushermostovaikutuksia, kuvattu julkaisussa Annual Drug Data Report, 3 (1981), s. 246 (Richardson-Merrel Inc.); (trifenyyli)fosforanylideeni)karbamiinihapon etyyliesteri, jolla on farmaseuttinen aktiivisuus, jota ei ole kuvattu, on esitetty patenttijulkaisussa DD 137 716; yhdisteet fenyyli-[7-(4-pyridinyyli)pyratsolo[1,5-a]pyrimidin-3-yyli]metanoni ja 2-furanyyli-[7-(3-pyridinyyli)pyratsolo[1,5-a]pyrimidin-3-yyli]metanoni, joita voidaan käyttää anksiolyyttisinä aineina, on kuvattu US-patenttihakemuksessa 506 966, tehty 23. kesäkuuta  
 25 1983, hakija American Cyanamid Co., yhdiste 5-(3-bromifenyyli[1,2,4]triatsolo[1,5-c]pyrimidiini-2-amiini, astman vastainen aine, kuvattu US-patenttihakemuksessa 518 250, tehty 28. heinäkuuta 1983, hakija American Cyanamid Co.,  
 30  
 35

ja cisplatinin hydrofobiset kompleksit kuten 2-hydratsino-4,5-dihydro-1H-imidatsolinyhdiste platinakloridin ( $\text{PtCl}_2$ ) kanssa (1:1) ja 5-hydratsino-3,4-dihydro-2H-pyrrolin yhdiste platinakloridin kanssa, jotka kumpikin ovat aktiivisia anti-neoplastisina aineina ja jotka on kuvattu US-patenttihakemuksessa 553 675, tehty 21. marraskuuta 1983, hakija American Cyanamid Co.

Esimerkkejä muista happamista lääkeaineista, jotka saostuvat vaihtelevin määrin fysiologisessa pH:ssa intravenöösissä infuusion jälkeen, ovat seuraavat:

Taulukko IA

Tavaramerkki	Ympäröivän liuoksen pH	pH, jonka toisella puolen tapahtuu merkittävää saostumista
Droperidol (dehydrobentsperidol)	3,24	5,83
Thalamonal	3,44	6,00
Dipidolor (piritramidi)	3,97	4,50
Phenergan (prometatsiini)	5,68	6,42
Largactil (klorpromatsiini)	5,57	6,50
Nozinan (levomepromitse)	4,38	6,50
Prazine (promatsiini)	4,85	7,10
Atarax (hydroksitsiini)	5,60	6,40
Inderal (propanololi)	3,50	6,00
Aramine (metaraminoli)	3,60	5,80
Persantine (dipyridamoli)	3,12	5,10
Eraldin (praktololi)	5,80	7,40

Piirustuksissa

kuvio 1 esittää bisantreenin liukoisuutta veteen, kuvio 2 esittää bisantreenin liukoisuutta valittuihin väliaineisiin ja biologisiin nesteisiin,

kuvio 3A on valokuva koiran laskimosta, kuvio 3B on valokuva koiran laskimosta, kuvio 4A on valokuva koiran laskimosta, kuvio 4B on valokuva koiran laskimosta, kuvio 5A on valokuva koiran laskimosta, kuvio 5B on valokuva koiran laskimosta,

kuvio 6 on graafinen esitys ryhmästä veren valkosolumäärien keskiarvoja (urokset), ja

kuvio 7 on graafinen esitys ryhmästä veren valkosolumäärien keskiarvoja (naaraat).

5 Hoidettaessa ihmisiä tai eläimiä lääkeaineilla on monissa tapauksissa tarpeen antaa lääkeaine intravenöösisti. Intravenööri anto on nopein ja suorin tapa lääkkeen saattamiseksi elimistöön. Voi kuitenkin esiintyä paikallisia laskimoruiskekohdan vastareaktioita, jotka saattaisivat johtua seuraavista syistä:

- 10 (a) mahdollisesti ärsyttävän lääkeaineen saostuminen paikallisesti suurina määrinä termodynaamisista syistä,  
(b) lääkeaineen luontainen taipumus sitoutua ensisijaisesti injektiokohdan kudokseen, mikä aiheuttaa lääkeaineen  
15 suuren paikallisen kasautumisen, ja  
(c) neulan vaurioittama laskimo.

Tämä johtaa lääkeaineen purkautumiseen suonesta ja sitten lääkeaineen vaikutukseen paljaaseen kudokseen.

Kuten julkaisussa Acta Anesthesiologica Belgica,  
20 nro 3 (lokakuu 1973), s 230-240, on kuvattu, paikallinen laskimon tukkotulehdus on hyvin yleinen laskimoinfuusioiden ja -injektioiden yhteydessä silloinkin, kun ilmeistä bakteerikontaminaatiota ei esiinny. Infuusioiden ollessa kyseessä tämä ongelma esiintyi suunnilleen 30 prosentissa  
25 tutkituista tapauksista riippumatta siitä, käytettiinkö neulaa tai metalli- tai muovikanyyliä. Muissa sarjoissa infuusiota seuraavan laskimon tukkotulehduksen esiintymistaajuudeksi osoittautui 25-30 %, kun taas 32 prosentissa tapauksista komplikaatio-oireet ilmenivät vasta viikon  
30 kuluttua. Myös havainnot, jotka on raportoitu julkaisussa Drug Intelligence and Clinical Pharmacy, 3 (toukokuu 1977), s 266, osoittivat, että 33 prosenttiin kaikista intrave-

nöösisti annetuista syövänvastaisista lääkeaineista liittyi laskimon tukkotulehduksen kehittyminen. Ongelman ratkaisemiseksi tehdyt ehdotukset kohdistuivat seuraaviin seikkoihin:

- 5 (a) neulan tai katetrin koon tarkistaminen verisuonen halkaisijaan nähden,
- (b) infuusiona annettujen liuosten tiheyden tarkistaminen ja
- (c) uusi halkiotyyppinen (slit type) neula tai katetri.

10 Kuten edellä on mainittu intravenöösi anto on suora ja nopea lääkkeen antotapa, mutta kuten hiljattain julkaisussa Drug Intelligence and Clinical Pharmacy, 17 (lokakuu 1983), s 713, ilmestyneessä artikkelissa Extravasation on esitetty, se ei ole yksinkertainen menetelmä, vaan me-

15 netelmä, joka edellyttää erityislaitteistoa, ammattitaitoista henkilöstöä ja tarkkaa seurantaa. Yksi tämän antotavan riskeistä on intrevenöösineen ja lääkeaineen joutuminen vahingossa välikudokseen. Tämä saattaisi tapahtua intravenöösikanyylin luiskahtaessa laskimosta kudokseen

20 tai jos intravenöösinestettä vuotaa laskimosta tähän tulleen reiän kautta tai kanyylin kohdan ympäriltä. Yllä mainitussa artikkelissa esitetään, että purkautumista suonesta havaittiin yhdessätoista prosentissa tutkituista lapsille annetuista intravenöösihoidoista ja jopa 22,8 prosentissa tutkituista aikuisille annetuista intravenöösihoidoista. Onneksi useimmat näistä vahingoista havaitaan nopeasti ja niistä aiheutuu vähän haittaa. Vaikka todettiin, että prosentuaalisesti pienessä määrässä tapauksia esiintyi kudosvaurioita, jotka johtuivat nesteiden purkautumisesta, tästä johtuva vaurio voi olla vakava ja se voi

30 johtaa pitkäaikaisempaan sairaalahoidon tarpeeseen kuin alunperin oli tarkoitus. Nestepurkautuman aiheuttaman vaurion alkuihminen muoto riippuu lääkityksen luonteesta ja välikudokseen joutuneen liuoksen tilavuudesta. Yksinkertaisimmassa muodossaan nestepurkautuman aiheuttama vaurio

35

voi ilmetä kivuliaana, punoittavana turvotuksena, joka ympäröi intravenöösikanyylin kohtaa. Jos vain osa ihon paksuudesta on vahingoittunut, alue voi näyttää rakkulaiselta ihon ollessa täplikäs ja tummunut. Jos iho on vahingoittunut koko paksuudeltaan, sen pinta voi näyttää hyvin valkoiselta ja myöhemmin voi kehittyä kuolleen kudoksen muodostama massa.

Syövän kemoterapeuttisten lääkeaineiden ekstravaasation aiheuttamien paikallisten myrkytystilojen ehkäisyyn ja hoitoon liittyviä ongelmia koskeva katsaus on esitetty julkaisussa *Cancer Treatment Reviews*, 7 (1980), s 17-27. Kuten julkaisussa *Seminars of Oncology*, i, nro 1 (maaliskuu 1982), s 14-22, on kuvattu, useimmat kemoterapeuttisten lääkeaineiden antoon käytetyt laskimot risteilevät ihon ja ihonalaisen rasvakerroksen välissä. Myrkyllisten lääkeaineiden purkautuminen laskimosta voi aiheuttaa sen, että iho katoaa koko paksuudeltaan alueelta, joka on vaurioitunut. Alueilla, joissa on vähän ihonalaista rasvaa kuten kädenselällä ja nivelten ympärillä, voi aiheutua myös vaikeita hermojen, jänteiden ja lihaksen vaurioita. Ehdotettuja hoitokeinoja nesteiden purkautumisvaaran vähentämiseksi olivat seuraavat:

- (a) käytetään intravenöösinesteen vapaata virtausta ja injektoidaan normaalia suolaliuosta ennen laskimoruisketta ja sen jälkeen,
- (b) vältetään kyynärtaivekuopan edellä olevan alueen (antecubital fossa) ja käden käyttämistä infuusio- tai injektiokohtana,
- (c) käytetään sopivaa virtausnopeutta ja
- (d) käytetään vain laskimo-valtimoavanteen laskimon puolta.

On kuitenkin esitetty, että monilla syöpäpotilailla on niin heikot laskimot, että satunnaisia ekstravasaatioita ei voida välttää.

Injektiokohdan vastareaktiot, joita seuraavassa

kuvataan adriamysiinin (doksorubisiini) osalta, ovat yleisiä monille lääkeaineille, joilla on fysiologisesti haitallisia ionisoitumisominaisuuksia, jotka johtavat saostumiseen ja/tai lääkeaineiden sitoutumiseen paikalliseen kudokseen, kun niitä annetaan parenteraalisesti. Jos tämän lisäksi tapahtuu vahingossa nesteen purkautumista laskimosta, ongelmat tulevat hyvin vaikeiksi.

Ongelma, joka liittyy adriamysiinin intravenöosiin antoon syövän hoidossa, on raportoitu julkaisussa *Reconstructive Surgery*, 61 (1978), s 86-92. Kun lääkeaine purkautuu pehmeään kudokseen, se aiheuttaa runsaasti kudokuoliota intravenöosiin käytetyn kohdan tienoilla. Tämä kuolio kehittyy hitaasti, jatkuu vaikeudeltaan voimistuen useiden viikkojen ajan eikä ole parannettavissa tavanomaisella tavalla. Muodostuvat haavaumat ovat kivuttomia, ja ne voivat jäädä vakavan tuskan ja toiminnallisen heikkenemisen syyksi useiden kuukausien ajaksi paranematta. Nekroottisen alueen ja ympäröivien, kudokseen purkautunutta lääkeainetta sisältävien kudosten poistaminen on suositeltavaa. Ihosiirrännäiset kiinnittyvät huonosti, jos transplantaatiokohdassa on jäljellä pieniä määriä lääkeainetta.

Kun bisantreenidihydrokloridin vesiliuosta annetaan nisäkkäille laskimoruiskeena, niin ongelma, jonka esiintyminen on todennäköistä, on kemiallinen tukkotulehdus [*Cancer Research*, 43 (helmikuu 1983), s 925-926]. Saatavissa olevan tiedon perusteella näyttää siltä, että tukkotulehduksen syynä on lääkeaineen saostuminen intravenöösiliuoksesta, kun tämä sekoittuu laskimovereen. Lääkeainehiukkasten erottuminen laskimon seinämille johtaa paikallisesti suuriin pitoisuuksiin, jotka kestävät pitkiä ajanjaksoja, sekä aikaansaa ärsytystä.

Bisantreenin liukoisuusominaisuudet, jotka puolestaan aiheuttavat saostumista, ovat hyvin suuri herkkyys lämpötilanmuutoksille, pH:lle ja erilaisille liuenneille

aineille. Esimerkiksi kuvassa 1 nähdään bisantreenin liukoisuus veteen pH:ssa 4,5 lämpötila-alueella 6°C:sta 30°C:seen, kun taas taulukosta IB ilmenee sen laaja liukoisuus-alue valittuihin väliaineisiin ja biologisiin nesteisiin; nämä arvot on esitetty graafisesti kuvassa 2.

Taulukko IB

Bisantreenin liukoisuus valittuihin väliaineisiin

Väliaine	pH	Liukoisuus (ug/ml)
10 5-%:nen dekstroosiliuos	4,6	10 000
Normaali suolaliuos	5,5	2 000
Täysveri	7,9	400
Plasma	7,7-8,2	90
15 Seerumi	7,8	27

Taulukosta voidaan nähdä, että bisantreeni on hyvin liukoinen väliaineisiin, jotka ovat käyttökelpoisia mahdollisina laskimoinfuusioina, kuten normaaliin suolaliuokseen ja 5-prosenttiseen dekstroosiin. Seerumissa ja plasmassa liukoisuus on kuitenkin huomattavasti heikompi pH:n suurenemisen vuoksi, ja tämä voi olla syynä siihen, että lääkeaine saostuu infuusiokohdassa. Havaitaan myös, että liukoisuus täysvereen on paljon suurempi kuin liukoisuus plasmaan ja seerumiin. Lääkeaineen liukoisuusominaisuuksien ja muun tiedon perusteella näyttää siltä, että lääkeaine lopulta jakautuu erytrosyytteihin, jotka sitten toimivat lääkeainetta hitaasti vapauttavina kantajina. Siten jakautuminen tapahtuisi ilman sitä edeltävää saostumista, mikäli lääkeaine voidaan pitää liuoksessa kyllin pitkään koko veritilavuuden täydellisen laimenemisen mahdollistamiseksi.

Antiartriittisen yhdisteen 3-(4,6-bis-(1,1,2,2-tetrametyylipropyli)amino)-s-triatsin-2-yyli-3-atsabisyklo[3.2.2]nonaanin suhteen yhteen kootut arvot osoitta-

vat, että tämän yhdisteen liukoisuus veteen on merkityksetön eikä tätä yhdistettä sen vuoksi suositella mahdollisena yhdisteenä käytettäväksi traditionaalisina oraalisina annosmuotoina kuten tabletteina.

5 Liukoisuudet määritettiin parenteraalisesti hyväksyttävissä liuottimissa ja ne on lueteltu taulukossa II. Tulokset osoittavat, että liukoisuus on alueella 0,5-1,5 mg/ml parenteraalisissa liuottimissa. Oraalisesti ja parenteraalisesti hyväksyttävät pinta-aktiivisten aineiden ja  
10 polymeerien, kuten tuotteiden Tween 40, 60 tai 80, polyetyleeniglykoli 300:n tai polyvinyylipyrrolidonin liuokset suurensivat liukoisuutta vain määrällä 0,5-1,0 mg/ml.

#### Taulukko II

15 Antiartriittisen triatsiiniyhdisteen liukoisuus parenteraalisesti hyväksyttäviin liuottimiin

<u>Liutin</u>	<u>mg/ml</u>
Bentsyylibentsoaatti	1,3
Propyleeniglykoli-isostearaatti	1,5
20 Bentsyylialkoholi	0,8
Dimetyyliasetamidi	0,7
Etanoli USP	0,1
Propyleeniglykoli	0,1
1,3-butyleeniglykoli	0,3
25 Triasetiini	0,1
Cremophor <sup>®</sup> EL	0,2
Emulphor <sup>®</sup> EL-620P	< 0,1
Propyleeniglykoli-isostearaatti	0,3
Brij <sup>®</sup> 35, 2-%:nen liuos	0,05

30 Koska antiartriittinen triatsiiniyhdiste on emäs, tutkittiin orgaanisia happoja vastaioneina lääkeaineen liukoisuuden parantamiseksi. Lääkeaineesta valmistettiin suolat meripihkahapon ja kanelihapon kanssa, nämä paransivat liukoisuutta etanoliin. Valmistettiin lisäksi lääke-

35

aineen komplekseja erilaisten orgaanisten ja epäorgaanisten happojen kanssa. Jotkut hapot kuten hippuri-, korkki- ja fosforihappo saivat aikaan vähäisiä parannuksia lääkeaineen vesiliukoisuuteen. Alustavat havainnot mahdollisista antomuodoista osoittivat seuraavaa:

- (a) lääkeaineen parenteraalinen absorptio oli mitätön, ja
- (b) oraalinen absorptio oli lievästi parempi, mutta noin 90 % yhdisteestä erittyi ulosteisiin.

Lääkeaineelle ominainen vaikealiukoisuus näyttää jossakin määrin olevan syynä yllä mainittuihin tuloksiin. Lääkeaineen vaikealiukoisuuden aiheuttaman ongelman ratkaisemiseksi yksi huomioonotetuista tavoitteista oli sellaisen annosmuodon aikaansaaminen, joka parantaisi lääkeaineen absorboitumista, kun sitä annetaan laskimo-, lihas- tai nivelruiskeena.

Öljy-vedessä-emulsion muodostama antosysteemi on edullinen ratkaisu hydrofiilisten, ionisoituvien, veteen niukkaliukoisten lääkeaineiden formulointiin ja antoon liittyviin ongelmiin.

1. Lääkeaineen suuren pitoisuuden paikallinen kosketus veren aineosan tai kudospateriaalin kanssa voitaisiin minimoida.
2. Lääkeaineen sisällyttäminen öljy-vedessä-emulsion öljyfaasiin, josta se vapautuisi nopeasti ja kontrolloidusti, mahdollistaisi lääkeaineen kulkeutumisen pois injektio- kohdasta saostumatta.
3. Esiintyvää lääkeaineen rajoittavaa liukoisuutta in vivo (veressä) voitaisiin suurentaa sopivalla emulsion formuloinnilla.
4. Lääkeaineen paikallinen immobilisoituminen injektio- kohtaan, mikä johtuu sille ominaisesti saostumistaipumuksesta tai sen sitoutumisesta kudokseen pienentää mahdollisesti toksisen lääkeaineen biosaatavuutta. Emulsion muodostaman, biologisesti hajoavan estevaikutuksen avulla lääkeaineen immobilisoituminen eliminoituisi ja siten

parantunut biosaatavuus pienentäisi tehokasta minimian-  
nosta ja suurentaisi terapeuttista indeksiä.

5. Sydämen imeytyvän lääkeaineen määrän huomattava vähene-  
minen saattaa olla tuloksena.

5 Seuraavien emulsioon liittyvien tunnusmerkkien tie-  
detään olevan oleellisia tekijöitä formuloitaessa halut-  
tua tuotetta:

1. Kaikkien aineosien tulee olla myrkyttömiä ja hyväksyttä-  
viä parenteraaliseen antoon.

10 2. Emulsion kaikkien hiukkasten tulisi olla halkaisijal-  
taan alle 5  $\mu$ m (edullisesti alle mikrometrin luokkaa),  
muuten ne saattavat tukkia keuhkokapillaareja.

3. Emulsio ei saisi seistessään muodostaa kasaumia.

15 4a) Emulsion tulisi olla siinä määrin stabiili, että se  
voi kuljettaa lääkeaineen oleellisesti pois in vivo injek-  
tiokohdasta ja siten oletettavasti vähentää paikallisia  
injektiokohdan reaktioita.

20 4b) Emulsion hiukkasina ei kuitenkaan tulisi jäädä ehjiksi  
niin pitkäksi ajaksi, että näitä hiukkasia kerääntyisi  
selektiivisesti maksaan ja muihin redikuloendoteelisen  
systeemin elimiin. Selektiivinen kerääntyminen näihin eli-  
miin tuhoaa muita hiukkasmuotojen jakelusysteemeitä kuten  
mikropallosten, liposomien ja tavanomaisten emulsioiden  
systeemeitä.

25 5. Rasvaemulsion täytyy kestää säteilytyssterilisointi ja  
lisäksi on toivottavaa, että se kestää laajoja lämpötila-  
vaihteluita huoneen lämpötilan lähellä.

30 6. Rasvaemulsion täytyy kestää pitkäaikaisvarastointia  
murtumatta, kermoittumatta eli rasvahiukkasten erottumatta  
pintaan ja flokkuloitumatta.

7. Lopuksi vaatimuksena on, että rasvaemulsioiden tulisi  
olla koostumukseltaan sellaisia, että niillä ei ole hai-  
tallista farmakologista vaikutusta verenpaineeseen ja  
-kiertoon eikä muihin fysiologisiin toimintoihin.

35 Nyt on todettu, että valitsemalla sopivasti lääke-

aine, rasvojen muoto, emulgaattorit, pinta-aktiiviset aineet, aktiiviset apuaineet, bakteriostaatit, säilöntäaineet, antioksidantit ja liuottimet, voidaan aikaansaada lipideihin liukoisten lääkeaineiden kantoaineiksi sopivia emulsiosysteemeitä, joita voidaan käyttää nisäkkäille ilman sivureaktioiden esiintymistä.

Keksinnön mukaisesti valmistetuille uusille emulsiosysteemimuodoille ominaiset piirteet johtuvat niissä olevista eri aineosista ja aineosien yhdistelmästä, eli aineosista, jotka kuuluvat seuraavien kategorioiden piiriin ja sisältyvät näihin:

1. öljyinen kantoaine eli öljyfaasi,
2. aktiivinen aineosa,
3. pinta-aktiivinen aine tai emulgaattori,
- 15 4. pinta-aktiivinen apuaine tai lisäemulgaattori,
5. ioniparin muodostaja,
6. toksisuuden muuttaja tai jäätymiseltä suojaava aine (mahdollinen),
7. antioksidantti (mahdollinen),
- 20 8. bakteriostaatti tai säilöntäaine (mahdollinen),
9. emulsion stabilisaattori ja kermoittumista estävä aine (mahdollinen) ja
10. vesi.

Öljyfaasi (1) voi sisältää noin 1 %:sta noin 50 :iin pääreseptistä

- (a) luonnossa esiintyviä kasviöljyjä, esim. puhdistettua seesamiöljyä, maapähkinäöljyä, oliiviöljyä, safloriöljyä, soijapapuöljyä ja niiden kaltaisia tai öljyistä kantoainetta kuten bentsylibentsoaattia,
- 30 (b) puolisynteettisiä mono-, di tai triglyseridejä käytettyinä yksin tai seoksina keskenään, esim. rac-glyseryyli-1-monopalmiitaatti, rac-glyseryyli-1-mono-oleaatti, 1,2-dipalmiitaatti, 1,3-dipalmiitaatti, trimyristaatti, tripalmiitaatti, tristearaatti, trioleaatti, trielaidaatti, trilinolaatti, triheptadekanoaatti ja niiden kaltainen tai frak-
- 35

tioidut tai synteettisiä öljyjä, joista voidaan mainita  
 esimerkkeinä vastaavasti Miglyol<sup>®</sup> 810 ja 812, kapryyli-  
 ja kapriinitriglyseridien seos, jota valmistaa fraktioi-  
 dusta kookosöljystä Dynamit Nobel Chemicals, Ruotsi, ja  
 5 Neobee<sup>®</sup> M5, kookosöljystä peräisin oleva fraktioitu tri-  
 glyseridi, jota on modifioitu, niin että on saatu alkoholi-  
 liin liukoinen öljy, tuottaja Drew Chemical Corp., Boonton,  
 N.J.

Aktiivinen aineosa (2) voi olla veteen niukkaliu-  
 10 koinen hydrofobinen ionisoituva lääkeaine, veteen liuke-  
 nematon hydrofobinen öljymäinen neste ja/tai aine, jonka  
 ionisoitumisvakiot ovat lähellä fysiologista pH:ta.

Pinta-aktiiviset aineet (3) voivat koostua olen-  
 naiselta osaltaan sekä vesiliukoisista että veteen liuke-  
 15 nemattomista tyypeistä kuten

(a) luonnon lesitiineistä ja fosfolipideistä, jotka ovat  
 peräisin muna- tai soijaraaka-aineista ja joita kutsutaan  
 muna- tai soijafosfatideiksi, esim. munalesitiini, muna-  
 fosfatidyylietanoliamiini, fosfatidiinihappo, kasvien mono-  
 20 galaktosyylidiglyseridi (hydrattu) tai kasvien digalaktosy-  
 ylidiglyseridi (hydrattu) ja niiden kaltaiset,

(b) synteettisistä lesitiineistä, joita ovat esimerkiksi  
 diheksanoyyli-L- $\alpha$ -lesitiini, didekanoyyli-L- $\alpha$ -lesitiini,  
 didodekanoyyli-L- $\alpha$ -lesitiini, ditetradekanoyyli-L-  
 25  $\alpha$ -lesitiini, diheksadekanoyyli-L- $\alpha$ -lesitiini, diokta-  
 dekanoyyli-L- $\alpha$ -lesitiini, dioleyyli-L- $\alpha$ -lesitiini,  
 dilinoleyyli-L- $\alpha$ -lesitiini,  $\alpha$ -palmito- $\beta$ -oleyyli-L-  
 $\alpha$ -lesitiini, L- $\alpha$ -glyserofosforyylikoliini ja niiden  
 kaltaiset;

(c) synteettisistä pinta-aktiivisista aineista, jotka pe-  
 30 rustuvat glyseroliin tai sorbitoliin ja joita ovat esim.  
 sorbitolitrei-isostearaatti, triglyserolidi-isostearaatti  
 ja triglyserolipentaoleaatti ja niiden kaltaiset, tai  
 aineista, jotka perustuvat polyoksietyloituihin hiilive-  
 35 tyihin tai kasviöljyihin; tällaisia ovat esim. Cremaphor<sup>®</sup>

EL tai RH40 ja niiden kaltaiset, Emulphor<sup>®</sup> EL-620P tai EL-719 ja niiden kaltaiset tai Arlacel<sup>®</sup> 186 ja sen kaltaiset. Pluronic F-66:n, munalesitiinin, soijalesitiinin ja niiden kaltaiset aineiden ja tiettyjen tyydyttyneiden tai tyydyttymättömien C<sub>6-20</sub>-alifaattisten happojen tapaisia aineita voidaan käyttää selektiivisesti pinta-aktiivisina apuaineina (4). Yllä mainitut tyydyttyneet tai tyydyttymättömät alifaattiset hapot voivat toimia yksittäin myös ioniparin muodostajina (5), toisin sanoen ne pystyvät muodostamaan lujan ionisidoksen sopivan veteen liukeneemattoman hydrofobisen ionisoituvan emäksisen lääkeaineen kanssa. Siten lääkeaine voi olla sekä sitoutuneena että solubilisoituneena öljy-vedessä-emulsion muodostaman antosysteemin öljyfaasissa. Pinta-aktiiviset apuaineet (4) ja ioniparin muodostajat (5) voidaan valita tyydyttyneistä tai tyydyttymättömistä alifaattisista tai aromaattisista hapoista kuten kaproiini-, enantiini-, kapryyli-, kapriini-, lauriini-, palmitiini-, steariini-, arakidoni-, arakidiini-, öljy-, linoli-, linoleeni-, hydroksibentsoe- ja kaneliha-

5  
10  
15  
20

25  
30  
35

On tunnettua, että eri vaiheiset ja tyyppiset ioniparit dissosioituvat yksittäisiksi ioneiksi voimakkaasti polaarien tai voimakkaasti solvatoivien väliaineiden kuten veden, alifaattisten alkoholien ja vesipitoisten orgaanisten liuottimien läsnäollessa. Kummankin ionin pitämiseksi tiiviinä ioniparimuotona vaaditaan heikosti polaareja väliaineita, ja näitä tarjoaa kohdassa (1) kuvattu emulsion öljyfaasi. Nämä ioniparit muuttavat lääkeaineen amfolyttisiksi molekyyleiksi ja toimivat täten pinta-aktiivisina apuaineina emulsion stabiloinnissa in vitro. Tämän parenteraalisen emulsiona olevan antosysteemin yksi tärkeimmistä ominaisuuksista on tuotteen varastointikestävyys in vitro. Mutta kun tuote on injektoitu, tapahtuu

emulsion destabilisoituminen in vivo, mikä puolestaan saa aikaan lääkeaineen nopean vapautumisen.

Jäätymiseltä suojaava aine tai tonisuuden muuttaja (6), kuten glyseroli, laktoosi, mannitoli, sorbitoli tai niiden kaltainen on mahdollinen ja sitä voidaan käyttää tuotteen suojaamiseksi jäätymiseltä ja myös siksi, että tämän aineen avulla aikaansaadaan ja säilytetään vesifaasissa sopiva osmoottinen paine. Myös antioksidantin (7) käyttö on mahdollista, ja tätä tarkoitusta varten formulaatioon voidaan sisällyttää esimerkiksi dl- $\alpha$ -tokoferolin kaltainen aine. Mikäli tuotteen steriilisyys on ongelma, voidaan käyttää bakteriostaatteja tai säilöntäaineita (8) kuten bentsyylialkoholia. Joka tapauksessa valmiin lääkeainemuodon täytyy olla steriili ja sen täytyy olla stabiili tuotanto- ja varastointiolosuhteissa ja se täytyy suojata mikro-organismien kuten bakteerien ja sienten kontaminaatiovaikutukselta.

Valittaessa öljyistä kantoainetta tai öljyä, pinta-aktiivista ainetta ja pinta-aktiivista apuainetta tai emulgaattoria tulisi pitää huolta siitä, ettei valita aineosia, jotka häiritsevät hydrofobisen lääkeaineen vaikutusta tai reagoivat sen kanssa kemiallisesti. Esimerkiksi tiettyjä säilöntäaineita kuten BHT:tä ja BHA:ta sisältyy öljytuotteisiin ja tällaiset säilöntäaineet saattavat reagoida hydrofobisten lääkeaineiden kuten bisantreeniemäksen kanssa. Siten tämän kekesinnön mukaisesti valmistettavissa emulsioformulaatioissa tulisi välttää tällaisia lisäaineita tai epäpuhtauksia sisältävien öljyjen tai muiden aineosien käyttöä.

Veteen liukenemattoman ionisen tai ionittoman hydrofobisen lääkeaineen kantajana käytettävän emulsioformulaation in vitro- eli varastointistabiilisuus riippuu (emulsion aineosien lisäksi) lääkeaineen molekyyliarakenteesta ja -muodosta. Emulsion stabiilisuuden määräävät sen pinta-  
35  
tafilmin (jonka muodostavat emulsion aineosat) tunnusmerkittiset ominaisuudet, joka on kosketuksessa öljy-vedessä-

emulsiopisaraa ympäröivän veden kanssa; stabiilisuus määräytyy kaikkien veden kanssa tapahtuvien molekyyli-  
vuorovaikutusten kokonaissumman mukaisesti. Lääkeaine on  
usein osa tätä pintafilmiä ja siten pääosa lääkeainemole-  
5 kyylistä on myös kosketuksessa pisaraa ympäröivään vesi-  
faasiin. Jos lääkeainemolekyylin sijoittuminen pintafilmiin  
destabiloi emulsion, käytetään sen vuoksi hydrofiilisiä tai  
hydrofobisia pinta-aktiivisia aineita tai polymeerejä emul-  
sion stabilisaattoreina (9), esim. tuotteita Emulphor<sup>®</sup>  
10 EL-620P, Emulphor EL-719, PVP tai erilaisia Pluronic<sup>®</sup> -  
möhkälekoopolymeerejä. Valitsemalla pinta-aktiivisten ai-  
neiden tai polymeerien tyyppi ja määrä asianmukaisen har-  
kinnan perusteella voidaan emulsion pintafilmi modifioida  
juuri sopivaksi kulloinkin kyseessä olevalle lääkeaineelle.

15 Kaikki hiukkasia sisältävät nestemäiset tai kiin-  
teät systeemit (emulsiot, liposomit, rakkulat, lipididis-  
persiot, polymeeri-lääkeainekonjugaatit, kiinteät mikro-  
pallot tai nanopallot) imeytyvät lääkeaineiden kanta-  
jina käytettyinä selektiivisesti suurempina pitoisuuksina  
20 (yleiseen verenkiertoon verrattuna) retikuloendoteelisiin  
elimiin (RES) kuten maksaan, pernaan jne. Tämä on selvä  
epäkohta halutun farmakologisen vaikutuksen kannalta, mi-  
käli halutaan lääkeaineen tasainen jakautuminen systeemi-  
sesti verenkiertoon mahdollisesti toksisten tai antineo-  
25 plastisten lääkeaineiden ollessa kyseessä. Eräs tällä kek-  
sinnöllä saavutettava etu perustuu tuotteen in vivo-omi-  
naisuuteen, emulsion luonteeseen, jonka ansiosta se on  
nopeasti murtuva, tai vaihtoehtoisesti lääkeainetta no-  
peasti kantajasysteemistä vapauttava. Tästä on seuraukse-  
30 na, että RES-elimet eivät tunnista tätä lääkeaineen kan-  
tajasysteemiä tyypilliseksi hiukkasia sisältäväksi systeemi-  
miksi. Tämän vuoksi ei tapahdu lääkeaineiden selektiivis-  
tä imeytymistä RES-elimiin tai se vähenee, kun lääkeaineet  
on solubilisoitu tässä kuvattuihin emulsiosysteemeihin.  
35 Emulsion nopeasti tapahtuva murtuminen eli lääkeaineen

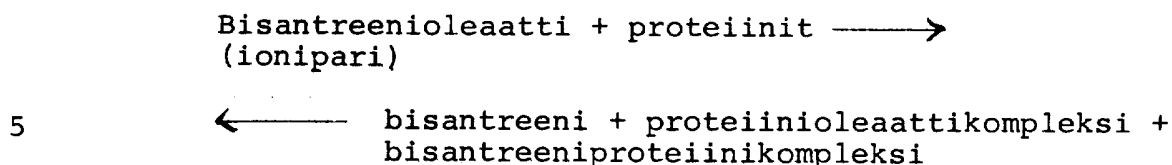
nopea vapautuminen kantajasysteemistä aikaansaadaan tämän keksinnön mukaisesti valitsemalla ioniparin muodostavat aineosat, esim. alifaattiset tai aromaattiset hapot emäksisille lääkeaineille tai alifaattiset tai aromaattiset amiinit happamille lääkeaineille. Tätä havainnollistetaan seuraavassa käyttäen esimerkkinä bisantreeniemästä, joka on emäksinen lääkeaine.

Bisantreeniemäs on liukenematon veteen, öljyihin, emulsioiden öljyfaasiin tai valmiisiin kaupallisiin ravintoemulsioihin kuten tuotteisiin Intralipid<sup>®</sup> ja Liposyn<sup>®</sup>. Kun bisantreeniemäs muodostaa ioniparin öljyhapon kanssa, niin bisantreenin liukoisuus öljyihin ja emulsioiden öljyfaasiin kasvaa. Lisäksi bisantreenioleaatti-ionipari toimii pinta-aktiivisena aineena, tulee emulsion rajapinta-kerroksen osaksi ja stabiloi emulsiota in vitro. Tätä seikkaa valaisevat havainnot, joiden mukaan samalla emulsioformulaatilla ilman bisantreenia on lyhyt varastointikestävyys.

Bisantreenioleaatti-ioniparin muodostuminen on tyyppillisten ioniparien tavoin reversiibeli tasapainotapah-tuma. Ioniparit ovat stabiileja vain heikosti dielektri-sissä (tai polaareissa) väliaineissa kuten öljyissä tai hydrofobisissa polymeereissä ja liuottimissa. Jos ioniparia ei sisällytettäisi heikosti polaariin emulsion öljyfaasiin, se dissosioituisi bisantreeniksi ja öljyhapoksi ja saostuisi joutuessaan veteen.

Veren plasmaproteiinit ja -lipoproteiinit sitovat alifaattisia happoja ja jossakin määrin myös aromaattisia happoja, esim. yhdeksän molekyyliä öljyhappoa sitoutuu yhteen tyyppillisen plasmaproteiinin molekyyliin. Kun bisantreenia sisältävää emulsiomuotoista antosysteemiä annetaan laskimoinfuusiona, joutuu emulsion bisantreenioleaatti-ioniparia sisältävä rajapinta siten plasmaproteiinien vaikutuksen kohteeksi, ja koska proteiineilla on kyky sitoa useita öljyhappomolekyyliä, ne toimivat öljyhapon ke-

rääjinä. Alla esitetty tasapaino siirtyy oikealle.



Näistä in vivo tapahtuvista vuorovaikutuksista on kokonais-  
tuloksena, että lääkeaine vapautuu emulsiosta. Vapautu-  
minen on myös verrannollinen emulsion ja veren aineosien  
välillä tapahtuvan vuorovaikutuksen laajuuteen ja on si-  
ten valvottavissa ja tapahtuu asteittain. Tämä ilmiö mah-  
dollistaa sitä seuraavan lääkeaineen sitoutumisen plasma-  
proteiineihin ja veren punasolukettoihin, niin ettei sitä  
saostu injektiokohtaan. Plasmaproteiinien aiheuttaman, bis-  
antreenioleaatti-ioniparin dissosioitumisen seurauksena  
on myös, että emulsiota stabiloiva ioniparin pinta-aktii-  
visuus katoaa. Emulsion fosfolipidien sitoutuessa plas-  
man lipideihin, lipoproteiineihin ja proteiineihin emulsio  
murtuu asteittain ennen kuin se ehtii maksaan. Hyvin sa-  
mankaltainen mekanismi in vivo on myös tapauksissa, jois-  
sa käytetään happamia lääkeaineita, jotka on solubilisoit-  
tu emulsiomuotoiseen antosysteemiin sen jälkeen kun niis-  
tä on muodostettu ionipareja glukamiinien tai sopivien aro-  
maattisten amiinien kanssa.

Keksintöä kuvataan yksityiskohtaisemmin seuraavien erityisten esimerkkien avulla.

#### Esimerkki 1

2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen  
antoon tarkoitetun emulsiokoostumuksen valmistus  
Bis-(2-imidatsolin-2-yylihydratsoni)-9,10-antra-  
seenikarboksaldehydiä (bisantreeniemästä) määrä, joka vas-  
taa 2,000 grammaa puhdasta yhdistettä, lisättiin samalla  
sekoittaen 30,000 grammaan öljyhappoa USP, joka oli 50 ml:n  
erlenmeyerpullossa. Seosta lämmitettiin vesihauteella 50-

60°C:ssa 20 minuuttia liukenemisen saattamiseksi täydelliseksi. Pullo poistettiin vesihauteelta. Sen jälkeen lisättiin 10,000 g tuotetta Emulphor<sup>®</sup> EL-620P ja 16,000 g erittäin hyvin puhdistettua seesamöljyä, ja koko seosta  
5 sekoitettiin, kunnes muodostui homogeeninen liuos, jota kutsuttiin "öljyfaasiksi".

29,7 mg:n määrään dl- $\alpha$ -tokoferoli USP:tä lisättiin samalla sekoittaen 564 mg edellä valmistettua öljyfaasia. 14,5 mg yllä mainittua dl- $\alpha$ -tokoferoliseosta  
10 lisättiin 3,0 g:aan edellä kuvattua öljyfaasia tuikepulloon. Tätä seosta sekoitettiin magneettisekoittimella, kunnes liukeneminen oli täydellinen, sitten lisättiin hitaasti ja samalla jatkuvasti sekoittaen 46,7 ml tuotetta Intralipid<sup>®</sup> 20 % (Intravenous Fat Emulsion, Cutter Medical, Cutter Laboratories). Muodostunutta emulsiota sonifikoitiin sitten viisi sekuntia.

Kun emulsio oli seissyt huoneenlämmössä 6 vuorokautta, havaittiin emulsion lievä kermoittuminen, joka katosi, kun emulsiota ravistettiin varovasti.

#### Esimerkki 2

5 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen antoon tarkoitetun emulsiokoostumuksen valmistus

Aineosa	Määrä, % (paino/tilavuus)
Bisantreeniemäs	0,5
25 Öljyhappo	4,0
Emulphor <sup>R</sup> EL-620P	1,0
Soijapapuöljy	10,0
Soijalesitiini 95 % P.C.	1,6
dl- $\alpha$ -tokoferoli	0,05
30 Glyseroli USP	2,25
Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs (täyd. 100:n)

1) 22,4 g soijalesitiiniä leikattiin ohuiksi lastuiksi ja liuotettiin 140 g:aan soijapapuöljyä sekoittamalla tyypessä ja lämmittämällä vesihauteella 50-60°C:ssa  
35 noin kahden tunnin ajan. 2) Bisantreeniemäsmäärä, joka

vastaa 7,000 grammaa puhdasta yhdistettä, liuotettiin 56,0 g:aan öljyhappoa N.F. sekoittamalla ja lämmittämällä vesihauteella 65-70°C:ssa työssä. 3) 700 mg dl- $\alpha$ -tokoferolia USP liuotettiin 14,0 g:aan tuotetta Emulphor<sup>®</sup> EL-620P sekoittaen työssä. Vaiheiden 1, 2 ja 3 tuotteet yhdistettiin kahden litran erlenmeyerpulloon, ja seosta pyörresekoitettiin työssä samalla kun siihen lisättiin 800 ml ruiskeisiin tarkoitettua vettä (WFI) 80 ml:n erinä. Sitten pulloon lisättiin 200 ml WFI:tä, joka sisälsi 31,50 g glyserolia USP, samalla kun seosta sekoitettiin kiivaasti. Muodostunut emulsio siirrettiin kvantitatiivisesti asteikolla varustettuun kahden litran mittalasiin ja tilavuus säädettiin tasan 1400 ml:ksi WFI:llä. Mittalasi suljettiin ja ravistettiin kiivaasti. Muodostunutta emulsiota sonikoitiin 10-15 sekuntia 80-100 ml:n erinä laitteella Branson Sonifier Driver (Branson Instruments Inc., Stamford, CT) tasavirta-asetyksellä 6-7 ampeeria. Yhdistetty sonifikoitu materiaali homogenoitiin sitten Gaulin-homogenisaattorissa (Gaulin Corp., Everett, MA) paineessa 55,16 MPa (8000 psi) kolmesti peräkkäin. Homogenisoitu aine jaettiin sitten 50 ml:n eriin 100 ml:n lääkepulloihin, jotka suljettiin ja varustettiin nimilapuilla.

Esimerkki 3

25 2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen antoon tarkoitettun emulsiokoostumuksen valmistus

Aineosa	Määrä % (paino/tilavuus)
Bisantreeniemäs	0,2
Öljyhappo NF	1,2
30 Emulphor <sup>®</sup> EL-620P	1,0
Soijapapuöljy (erittäin puhdas)	10,0
Soijalesitiini 95 % PC	1,2
dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	1,01
Glyseroli USP	2,25
35 Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	täyd. tilav. 1000 ml

1) 28,8 g soijalesitiiniä leikattiin ohuiksi las-  
tuiksi ja liuotettiin 240 g:aan erittäin puhdasta soija-  
papuöljyä sekoittaen työssä ja lämmittäen 50-55°C:ssa  
vesihauteella. 2) 2,2,684 g bisantreeniemästä liuotet-  
5 tiin 14,4 g:aan öljyhappoa N.F. lämmittämällä 70-75°C:  
ssa ja sekoittaen työssä. 3) 0,24 g:n määrä dl- $\alpha$ -toko-  
ferolia USP liuotettiin 24,0 g:aan tuotetta Emulphor<sup>®</sup>  
EL-620P sekoittaen työssä. Sitten 112 g vaiheessa 1 saa-  
tua seosta yhdistettiin 14,237 g:aan vaiheessa 2 saatua  
10 seosta ja 10,1 g:aan vaiheen 3 seosta tarkistetussa kah-  
den litran erlenmeyerpulloissa. Sekoitettu materiaali (jo-  
ta nimitettiin "täydelliseksi öljyfaasiksi") siirrettiin  
huonemaiseen (walk-in) inkubaattoriin 42°C:seen. 22,5 g  
glyserolia USP lisättiin samalla sekoittaen 150 ml:aan  
15 ruiskeisiin tarkoitettua vettä, tämäkin seos sijoitet-  
tiin 42°C:n inkubaattoriin. Lisäksi noin 750 ml ruiskei-  
siin tarkoitettua vettä sopivassa astiassa tasapainotet-  
tiin 42°C:ssa inkubaattorissa. Myös asteikolla varustet-  
tu kahden litran mittalasi ja tulppa tasapainotettiin.

20 Kun kaikki aineosat oli tasapainotettu 42°C:seen  
inkubaattorissa, lisättiin noin 500 ml ruiskeisiin tar-  
koitettua vettä tarkistettuun kahden litran erlenmeyer-  
pulloon, jossa oli "täydellinen öljyfaasi". Vesi lisät-  
tiin 6-8 eränä samalla pyörresekoittaen kaikkiaan noin  
25 kahden minuutin kuluessa. Edellä kuvattu glyseroli/vesi-  
seos lisättiin emulsioon kolmena eränä samalla kun pyör-  
resekoitettiin jatkuvasti; sen jälkeen koko emulsioseos  
siirrettiin asteikolla varustettuun kahden litran mitta-  
lasiin, ravistettiin kiivaasti, saatettiin määrättilavuu-  
30 teen ruiskeisiin tarkoitettulla vedellä ja ravistettiin  
uudelleen.

Koko emulsioseosta homogenoitiin laitteessa  
Eppenback Homo-Mixer (Gifford-Wood Co., Hudson, NY) suun-  
nilleen 3 minuuttia. Senjälkeen seos ajettiin Gaulin-homo-  
35 genisaattorin läpi seuraavalla tavalla. Seos ajettiin lait-

teen läpi 55,16 MPa:n (8000 psi) paineessa kolme kertaa peräkkäin ja sen jälkeen vielä kerran paineessa 27,58 MPa (4000 psi). Lopullisen homogenaatin hiukkaskoko tarkistettiin fotomikrografisella tutkimuksella ja tässä todettiin hiukkasten olevan kooltaan yleensä noin 1,0  $\mu$ m.

Senjälkeen emulsio steriilisuodatettiin tavanomaiseen tapaan käyttäen 0,45  $\mu$ m:n kasettia tyypikehässä 27,58 kPa:n (4 psi) paineessa. Tuote jaettiin aseptisesti 50 ml:eriin 100 ml:n pulloihin. Pullot suljettiin tulpilla ja kiristettiin aseptisesti, minkä jälkeen ne varustettiin nimilapuilla ja ne sisälsivät tuotteen vaaleankeltaisena emulsiona.

#### Esimerkki 4

2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen antoon tarkoitetun emulsiosysteemin valmistus käyttäen tuotetta Intralipid<sup>®</sup> 20 %

Aineosa	Määrä % (paino/tilavuus)
Bisantreeniemäs	0,2
Öljyhappo USP	1,2
20 Emulphor <sup>R</sup> EL-620P	1,0
Seesamöljy (erittäin puhdas)	1,6
dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	0,002
Soijapapuöljy )	19,2
Munalesitiini )	1,152
Glyseroli USP ) *	2,16
25 Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs
* peräisin tuotteesta Intralipid <sup>R</sup> 20 %	

#### "Öllyfaasin" valmistus

Bisantreeniemäsmäärä, joka vastasi 2,400 grammaa, lisättiin hitaasti 14,400 g:aan öljyhappoa USP sekoittaen magneettisekoittimella tunnin kuluessa huoneenlämmössä. Sitten lisättiin 12,000 g tuotetta Emulphor<sup>®</sup> 620P ja sekoittamista jatkettiin 2 tuntia. Muodostunut seos lämmitettiin noin 50°C:seen vesihauteella ja 19,200 g erittäin puhdasta seesamöljyä lisättiin sekoittaen 30 minuutin ajan. Sen jälkeen lisättiin 24,0 mg dl- $\alpha$ -tokoferolia

ja koko seos lämmitettiin 44-55°C:seen ja sekoitettiin vielä 3 tuntia 40 minuuttia, jolloin saatiin valmis "öljyfaasi".

5 Kun 4,002 g yllä saatua "öljyfaasia" laimennetaan 100 ml:ksi tuotteella Intralipid<sup>®</sup> 20 % (20 % intravenöösiksi rasvaemulsio valmistajalta Cutter Medical) ja seosta sekoitetaan kiivaasti ja sonifikoidaan 5 sekuntia, saadaan tämän esimerkin tuote.

Esimerkki 5

10 2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen antoon tarkoitetun emulsiosysteemin valmistus

Aineosa	Määrä % (paino/tilavuus)
Bisantreeniemäs	0,2
Öljyhappo USP	0,8
15 Heksaanihappo	0,1
Soijapapuöljy (erittäin puhdas)	10,0
Soijalesitiini 95 % PC	1,2
dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	0,01
Polyvinyylipyrrolidoni, tyyppi NP-K30	0,1
20 Glyseroli USP	2,25
Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	gs

1) Bisantreeniemäsmäärä, joka vastasi 1,68 grammaa, lisättiin hitaasti työssä seokseen, jonka muodostivat 6,000 g öljyhappoa USP ja 0,750 g heksaanihappoa, 25 ml:n tarkistettuun erlenmeyerpulloon samalla sekoittaen vesihauteella 60-70°C:ssa.

2) 8,400 g soijalesitiiniä leikattiin lastuiksi ja lisättiin työssä 70,000 g:aan soijapapuöljyä 125 ml:n tarkistettuun erlenmeyerpulloon, lämmitettiin 55-60°C:ssa vesihauteella. Seosta sekoitettiin ja kun soijalesitiini oli liuennut, lisättiin 70 mg dl- $\alpha$ -tokoferolia. Sekoitamista jatkettiin, kunnes liukeneminen oli täydellinen.

3) 13,50 g glyserolia USP liuotettiin ruiskeisiin tarkoitettuun veteen (WFI) ja laimennettiin 100 ml:ksi.

35 4) 600 mg polyvinyylipyrrolidonia (PVP) tyyppi

NP-K30 liuotettiin 300 ml:aan ruiskeisiin tarkoitettua vettä.

Seuraavat tuotteet sijoitettiin 42°C:seen huoneko-  
koiseen inkubaattoriin ja annettiin tasapainottua sanot-  
5 tuun lämpötilaan: vaiheesta 1 saatu bisantreeniemäksen,  
öljyhapon ja heksaanihapon seos (8,43 g), vaiheen 2 soija-  
lesitiinin, soijapapuöljyn ja dl- $\alpha$ -tokoferolin seos  
(78,47 g), vaiheen 3 glyseroliliuos (100 ml), vaiheen 4  
PVP-liuos (300 ml), 250 ml WFI, tarkistettu yhden litran  
10 mittalasi ja tulppa sekä yhden litran erlenmeyerpullo.

Inkubaattorissa yhdistettiin 6,74 g vaiheesta 1  
saatua seosta 67,26 grammaan vaiheen 2 seosta litran erlen-  
meyerpullossa pyörresekoittaen, sitten lisättiin vaiheen  
4 PVP-liuos (300 ml) 4-5 eränä, joista kukin oli 60-75 ml,  
15 noin 2 minuutin kuluessa. Sitten lisättiin 100 ml WFI:tä  
nopeasti kahtena 50 ml:n eränä samalla pyörresekoittaen,  
ja sen jälkeen vaiheen 3 glyseroliliuos. Koko seos siir-  
rettiin sitten asteikolla varustettuun yhden litran mit-  
talasiin ja täytettiin 600 ml:n merkkiin saakka WFI:llä.  
20 Seosta ravistettiin hyvin ja sitä homogenoitiin lämpimänä  
Eppenback Homo-Mixer-laitteessa 3 minuuttia 750 W:n säätö-  
muuntajan (Variac<sup>®</sup>) asetuksella 80. Muodostunut emulsio  
ajettiin Gaulin-homogenisaattorin läpi neljästi peräkkäin  
paineella 55,16 MPa (8000 psi). Sen jälkeen emulsio suo-  
25 datettiin 0,45 Pall-suotimen läpi ja jaettiin 50 ml:n erinä  
100 ml:n pulloihin.

#### Esimerkki 6

2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen  
antoon tarkoitetun emulsiosysteemin valmistus

30	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus)</u>
	Bisantreeniemäs	0,2
	Öljyhappo USP	1,0
	Heksaanihappo	0,1
	Soijapapuöljy (erittäin puhdas)	10,0
35	Soijalesitiini 95 % PC	1,2
	dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	0,01

Polyvinyyli pyrrolidoni tyyppi NP-K30	0,1
Glyseroli USP	2,25
Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs

5 1) Bisantreeniemäsmäärä, joka vastasi 1,680 g, lisättiin hitaasti työssä seokseen, jonka muodostivat 7,500g öljyhappoa USP ja 0,750 g heksaanihappoa 25 ml:n tarkistettuun erlenmeyerpulloon samalla sekoittaen vesihauteella 55-60°C:ssa.

2) Identtinen esimerkin 5 vaiheen 2 kanssa.

10 3) Identtinen esimerkin 5 vaiheen 3 kanssa.

4) Identtinen esimerkin 5 vaiheen 4 kanssa.

Seuraavat tuotteet asetettiin 42°C:seen huoneko-  
koiseen inkubaattoriin ja annettiin tasapainottua sanot-  
tuun lämpötilaan: vaiheesta 1 saatu bisantreeniemäksen,  
15 öljyhapon ja heksaanihapon seos (9,930 g), vaiheen 2 soija-  
lesitiinin, soijapapuöljyn ja dl- $\alpha$ - tokoferolin seos  
(78,470 g), vaiheen 3 glyseroliliuos (100 ml), vaiheen  
4 PVP-liuos (300 ml), 250 ruiskeisiin tarkoitettua vettä  
(WFI), tarkistettu asteikolla varustettu yhden litran mit-  
20 talasi ja tulppa sekä yhden litran erlenmeyerpullo.

Inkubaattorissa yhdistettiin 7,942 g vaiheesta 1  
saatua seosta vaiheen 2 koko seokseen (67,260 g) litran  
erlenmeyerpullossa pyörresekoittaen (75,202 g), sen jälkeen  
lisättiin vaiheen 4 PVP-liuos (300 ml) 4-5 eränä, joista  
25 kukin oli 60-75 ml, noin kahden minuutin kuluessa. Sitten  
lisättiin 100 ml WFI:tä nopeasti kahtena 50 ml:n eränä  
samalla pyörresekoittaen ja sen jälkeen vaiheen 3 glyse-  
roliliuos. Koko seos siirrettiin sitten asteikolla varustet-  
tuun yhden litran mittalasiin ja täytettiin 600 ml:n merk-  
30 kiin saakka WFI:llä. Seosta ravistettiin hyvin, homogenoi-  
ttiin lämpimänä Eppenback Homo-Mixer-laitteessa 3 minuut-  
tia 750 W:n säätömuuntajan (Variac<sup>®</sup>) asetuksella 80.  
Muodostunut emulsio ajettiin Gaulin-homogenisaattorin läpi  
seuraavasti: 600 ml:n emulsiota kierrätettiin laitteen lä-  
35 pi 4,25 minuuttia paineella 55,16 MPa (8000 psi). Sen jäl-

5 keen seos ajettiin vielä kerran laitteen läpi paineella 55,16 MPa. Materiaali esisuodatettiin millipore-suotimella, sitten steriilisuodatettiin 0,45  $\mu$ m:n Pall-suotimen läpi ja jaettiin aseptisesti 50 ml:n erinä 100 ml:n pulloihin.

Esimerkki 7

Tuotetta Intralipid<sup>®</sup> 20 % sisältävässä, lääkeaineen antoon tarkoitetussa emulsiosysteemissä käytettävän plasebon valmistus

10	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus)</u>
	Öljyhappo USP	1,2
	Emulphor <sup>®</sup> EL-620P	1,0
	Seesamöljy (erittäin puhdas)	1,6
	dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	0,002
15	Soijapapuöljy )	19,2
	Munalesitiini ) *	1,152
	Glyseroli USP )	2,16
	Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs
	* Peräisin tuotteesta Intralipid <sup>®</sup> 20 %	

20 Aineosat formuloitiin kuten esimerkissä 4 on kuvattu bisantreeniemästä lukuunottamatta.

Esimerkki 8

(Bisantreeniemäs)

25 Suurempia lääkeainepitoisuuksia sisältävässä, lääkeaineen antoon tarkoitetussa emulsiosysteemissä käytettävän plasebon valmistus

	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus)</u>
	Öljyhappo USP	4,0
	Emulphor <sup>R</sup> EL-620P	1,0
30	Soijapapuöljy	10,0
	Soijalesitiini 95 % PC	1,6
	dl- $\alpha$ -tokoferoli USP	0,05
	Glyseroli USP	2,25
	Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs

35 Aineosat formuloitiin kuten esimerkissä 2 on ku-

vattu lukuunottamatta bisantreeniemästä.

Esimerkki 9

10 mg/ml antiartriittista lääkeainetta sisältävän,  
oraalisen, lääkeaineen antoon tarkoitetun emulsio-  
5 systeemin valmistus

Aineosa Määrä % (paino/tilavuus)

	3- $\sqrt{4,6}$ -bis- $\sqrt{(1,1,2,2}$ -tetra- metyylipropyyli) amino $\sqrt{7}$ -s-tri- atsin-2-yyli $\sqrt{7}$ -3-atsabisyklo- $\sqrt{3.2.2}$ nonaani	1,0
10	Öljyhappo	1,2
	Heksaanihappo	0,250
	Emulphor <sup>®</sup> EL-620P	1,0
	Soijapapuöljy	10,0
	Soijalesitiini-Controlex P	1,6
15	dl- $\alpha$ -tokoferoli	0,05
	Glyseroli USP	2,25
	Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs

1) 3- $\sqrt{4,6}$ -bis- $\sqrt{(1,1,2,2}$ -tetrametyylipropyyli) amino $\sqrt{7}$ -  
s-triatsin-2-yyli $\sqrt{7}$ -3-atsabisyklo $\sqrt{3.2.2}$ nonaanimäärä, joka  
20 vastasi 12,000 g, liuotettiin sekoittaen ja vesihauteella  
lämmittäen seokseen, jonka muodostivat 14,400 g öljyhap-  
poa USP ja 3,000 g heksaanihappoa.

2) 22,400 g soijalesitiiniä (Centrolex<sup>®</sup> P) leikat-  
25 tiin lastuiksi ja lisättiin 140,000 g:aan erittäin puhdas-  
ta soijapapuöljyä. Seosta lämmitettiin 55-60°C:ssa vesi-  
hauteella sekoittaen, kunnes liukeneminen oli täydellinen.

3) 600 mg dl- $\alpha$ -tokoferolia liuotettiin 12,000 g:aan  
tuotetta Emulphor<sup>®</sup> EL-620P kuten edellä vaiheessa 2 on  
kuvattu.

30 Yhden litran erlenmeyerpulloon lisättiin 24,50 g  
vaiheessa 1 saatua seosta, 116,00 g vaiheen 2 seosta ja  
10,50 g vaiheen 3 seosta. Tätä seosta sekoitettiin ja läm-  
mitettiin vesihauteella 55-60°C:ssa, sitten lisättiin 500 ml  
ruiskeisiin tarkoitettua vettä pyörresekoittaen jatkuvasti  
35 ja sen jälkeen liuos, jonka muodosti 22,50 g glyserolia

laimennettuna ruiskeisiin tarkoitettulla vedellä 200 ml:ksi. Edellä saatu seos siirrettiin tarkistettuun asteikolla varustettuun kahden litran mittalasiin ja täytettiin 1000 ml:n merkkiin saakka WFI:llä. Seosta ravistettiin hyvin ja homogenoitiin sen jälkeen Eppenback Homo-Mixerissä 5 minuuttia, jolloin saatiin valkoinen emulsio.

Esimerkki 10

10 10 mg/ml 4-bifenyylietikkahappoa sisältävän intramuskulaarisesti ja/tai intra-artikulaarisesti käytettävän, lääkeaineen antoon tarkoitetun emulsiosysteemin valmistaminen

Aineosa Määrä % (paino/tilavuus)

	4-bifenyylietikkahappo	1,0
	N-metyyli-D-glukamiini	0,92
15	Soijapapuöljy (erittäin puhdas)	7,00
	Soijalesitiini 95 % PC	1,00
	Bentsyylialkoholi	0,60
	Glyseroli USP	4,50
	Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs
20	1) 4,00 g 4-bifenyylietikkahappoa yhdistettiin sekoittaen 3,68 g:aan N-metyyli-D-glukamiinia ja 40 ml:aan 3A-alkoholia työssä, sekoittamista jatkettiin, kunnes muodostui kirkas liuos. Liuos haihdutettiin tyhjöissä kaiken 3A-alkoholin poistamiseksi. Kaikkiaan 4,76 g:n erä	
25	näin saatua kirkasta konsentraattia siirrettiin tarkistettuun yhden litran erlenmeyerpulloon ja säilytettiin työssä.	
	2) Seos, jonka muodostivat 28,00 g soijapapuöljyä, 4,00 g soijalesitiiniä ja noin 50 ml petrolieetteriä, liuotettiin sekoittaen työssä. Liuos väkevöitiin tyhjöissä kaiken petrolieetterin poistamiseksi. Sitten jäännökseen	
30	lisättiin 2,4 g bentsyylialkoholia sekoittaen, niin että saatiin kirkas liuos.	
35	3) 13,50 g glyserolia USP liuotettiin ruiskeisiin tarkoitettuun veteen ja laimennettiin noin 60 ml:ksi.	

4) 25,80 g vaiheen 2 liuosta siirrettiin tarkistettuun yhden litran erlenmeyerpulloon, joka sisälsi vaiheessa 1 saadun kirkkaan konsentraatin.

Seuraavat tuotteet sijoitettiin 42°C:seen huonekokoi-  
 5 seen inkubaattoriin ja tasapainotettiin sanottuun lämpö-  
 tilaan: vaiheen 4 pullo, joka sisälsi vaiheiden 1 ja 2  
 tuotteiden seoksen (31,56 g), vaiheen 3 pullo, joka si-  
 sälsi glyseroli/vesi-seoksen, pullo, joka sisälsi vielä  
 200 ml WFI:tä ja tarkistettu 500 ml:n mittalasi, joka oli  
 10 varustettu asteikolla.

Inkubaattorissa lisättiin sekoittaen vaiheen 4 pul-  
 lon sisältöä 180 ml WFI:tä hitaasti 2 minuutin kuluessa.  
 Jatkuvasti pyörresekoitettaen lisättiin sitten samalla ta-  
 valla vaiheen 3 glyseroli/vesi-seos. Koko emulsio siir-  
 15 rettiin sitten tarkistettuun 500 ml:n mittalasiin ja ti-  
 lavuus säädettiin 300 ml:ksi WFI:llä. Mittalasi suljettiin  
 tulpalla ja ravistettiin kiihvaasti. Muodostunutta emul-  
 siota sonikoitiin ja homogenoitiin kuten esimerkissä 2 on  
 kuvattu.

20 Esimerkki 11

Kaksikomponenttiöljyfaasin valmistaminen emulsio-  
 antosysteemiin, jota käytetään lääkeaineen oraali-  
 sen absorboitumisen parantamiseksi

Komponentti A

25	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus) *</u>
	Emulphor <sup>®</sup> EL-620P	1,0
	Soijapapuöljy	20,0
	Soijalesitiini 95 % PC	1,2
	dl- $\alpha$ - tokoferoli	0,05

30 \* Tämä koostumus sopii käytettäväksi laimennettuna 100 ml:  
 lla ruiskeisiin tarkoitettua vettä öljy/vesi-emulsion te-  
 kemiseen.

Komponentti B

35	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus)</u>
	Öljyhappo	1,2

Jotta saataisiin 100 g täydellistä öljyfaasia, ha-

luttu määrä 3- $\sqrt{4}$ ,6-bis- $\sqrt{2}$ (1,1,2,2-tetrametyylipropyli)ami-  
no $\sqrt{7}$ -s-triatsin-2-yyli $\sqrt{7}$ -3-atsabisyklo $\sqrt{3}$ .2.2 $\sqrt{7}$ nonaania lisä-  
tään 5,117 g:aan komponenttia B samalla sekoittaen suun-  
nilleen 30 minuuttia eli kunnes lääkeaine on liuennut.

5 Yllä esitettyyn seokseen lisätään 94,883 g kompo-  
nenttia A samalla sekoittaen 50°C:ssa vesihauteella,  
kunnes muodostuu kirkas öljyfaasi käytettäväksi emulsiossa.

10 Kun tätä yhdistettyä kaksikomponenttiöljyfaasia an-  
netaan oraalisesti nisäkkäille, muodostuu emulsio in situ  
ruuansulatusjärjestelmän luonnollisesta vaikutuksesta.

Esimerkki 12

2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen  
antoon tarkoitetun emulsiosysteemin valmistus

	<u>Aineosa</u>	<u>Määrä % (paino/tilavuus)</u>
15	Bisantreeniemäs	0,224 *
	Öljyhappo	0,700
	heksaanihappo	0,100
	Soijapapuöljy USP	7,000
	Soijalesitiini 95 %	1,200
20	Bentsyylialkoholi	0,900
	dl- $\alpha$ -tokoferoli	0,010
	Glyseroli USP	2,25
	Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs

25 \* Määrä, joka tarvitaan, jotta saadaan 0,200 % (paino/tilavuus) puhdasta lääkeainetta.

30 1) Bisantreeniemäsmäärä, joka vastasi 2,200 g puhdasta yhdistettä, lisättiin hitaasti ja samalla sekoittaen seokseen, jossa oli 7,700 g öljyhappoa, 1,100 g heksaanihappoa ja 5,6573 g bentsyylialkoholia, pullossa, joka oli täytetty tyypellä ja upotettuna vesihauteeseen, joka pidettiin 55-60°C:n lämpötilassa. Sekoittamista jatkettiin, kunnes liukeneminen oli täydellinen eli noin tunnin ajan.

35 2) Seosta, jonka muodostivat 77,000 g soijapapuöljyä USP, 110 g dl- $\alpha$ -tokoferolia ja 4,2427 g bentsyylialkoholia, lämmitettiin ja sekoitettiin pullossa, joka oli

upotettu 40-45°C:ssa pidettyyn vesihauteeseen. Sitten 13,200 g soijalesitiiniä leikattiin lastuiksi ja lisättiin seokseen ja sekoittamista jatkettiin, kunnes liukeneminen oli täydellinen eli noin 35 minuuttia.

5           3) 28,125 g glyserolia USP punnittiin yhden litran tarkistettuun asteikolla varustettuun mittalasiin, sitten mittalasi sijoitettiin 42°C:seen huonekokoiseen inkubaattoriin ja sen annettiin tasapainottua sanottuun lämpötilaan. Glyseroli liuotettiin ruiskeisiin tarkoitettuun veteen (WFI), tasapainotettiin 42°C:seen ja täytettiin merkkiin saakka WFI:llä.

10           4) 15,383 g vaiheen 1 seosta yhdistettiin 85,957 g:aan vaiheesta 2 saatua seosta ja sekoitettiin tarkistetuksa 1000 ml:n asteikolla varustetussa mittalasisissa. Mittalasi sijoitettiin sitten huonekokoiseen inkubaattoriin ja sen annettiin tasapainottua. Sitten lisättiin 800 ml vaiheen 3 glyseroliliuosta ja tilavuus säädettiin 1000 ml:ksi WFI:llä. Seosta ravistettiin hyvin ja se homogenoitiin laitteen Microfluidizer<sup>TM</sup>110 (Microfluidics Corporation, Newton, MA 02164) avulla tyypin paineessa 551,6-689,5 kPa (80-100 psi) emulsioon hiukkaskoon pinentämiseksi. Hiukkaskokojakautuma määritettiin aallonpituudella 632,8 nm laitteella NICOMP Model 200 submicron particle sizer (Pacific Scientific, HIAC/Royco Instruments Div., Smithtown, NY 11787) ja sen todettiin olevan alueella 0,2-0,5 μm.

25           Vaihtoehtoisesti emulsio voidaan homogenoida ajamalla se Gaulin-homogenisaattorin läpi esimerkissä 5 kuvatulla tavalla.

Esimerkki 13

30           2 mg/ml bisantreeniemästä sisältävän, lääkeaineen antoon tarkoitettun emulsiosysteemin valmistus (käyttäen kloroformia)

Aineosa	Määrä % (paino/tilavuus)
Bisantreeniemäs	0,224 *
Öljyhappo	0,700
Heksaanihappo	0,100
5 Soijapapuöljy USP	7,000
Soijalesitiini 95 %	1,200
Bentsyylialkoholi	0,900
dl- $\alpha$ -tokoferoli	0,010
Glyseroli USP	2,25
10 Ruiskeisiin tarkoitettua vettä	qs
* Määrä, joka tarvitaan, jossa saadaan 0,200 % (paino/tilavuus) puhdasta lääkeainetta.	

1) Bisantreeniemäsmäärä, joka vastaa 2,200 g puhdasta yhdistettä, 7,700 g öljyhappoa, 1,000 g heksaanihappoa ja 5,6573 g bentsyylialkoholia solubilisoitiin typellä täytetyssä pullossa lisäämällä 20-40 ml kloroformia samalla pyörresekoittaen. Muodostunut liuos haihdutettiin tyhjiössä 30°C:ssa kloroformin poistamiseksi, jolloin jäljelle jäi kirkas aineosien muodostama liuos.

2) Sen jälkeen jatkettiin esimerkin 12 vaiheiden 2, 3 ja 4 mukaisesti loppuun saakka.

Bisantreeniemäkselle käytettävien, keksinnön mukaisesti valmistettuja uusia lääkeantoon tarkoitettuja emulsiosysteemeitä edustavien koostumusten ja tunnettujen kaupallisten intravenöösiin rasvaemulsioiden välinen vertailu on esitetty taulukossa III. Oletettavasti uusia taulukossa III kuvattuja emulsiosysteemeitä voidaan käyttää myös muiden tunnettujen veteen liukenemattomien hydrofobisten ionisoituvien lääkeainemuotojen kanssa; tällaisia ovat mm adriamysiini, amfoterisiini B, indometasiini, terfenadiini, prometatsiini, klooripromatsiini, hydrok-sitsiini ja niiden kaltaiset kuten edellä taulukossa IA on esitetty.

Taulukko III

Tunnettujen intravenöösioiden rasvaemulsioiden ja uusien, bisantreenille sopivien lääkeaineen antoon tarkoitettujen emulsiosysteemien välinen vertailu

Aineosa, % (paino/tilavuus)	Intra- Lipid <sup>®</sup>	Liposyn <sup>®</sup>	Lipomul <sup>®</sup>	Emulsiot	1 (esim.2)	2 (esim.3)	3 (esim.4)	4 (esim.5)	5 (esim.6)
Soijapapubljy	10				10	10	19,2	10	10
Safloriöljy		10							
Puuvillansiemen- öljy			15						
Erittäin puhdas seesamiöljy				5			1,6		
Öljyhappo				4,0	1,2	1,2		0,8	1,0
Heksaanihappo								0,1	0,1
Polyvinylipyrro- lidoni tyyppi NP-K30								0,1	0,1
Soijapapufosfatidejä, soijalesitiiniä			2,5	1,6	1,2	1,2		1,2	1,2
Munafosfatidi, munalesitiinejä	1,2	1,2					1,15		
Pluronic F-68	2,25	2,5	0,3	2,25	2,25	2,16	2,25	2,25	2,25
Glyseroli <sup>R</sup> EL-620P				1,0	1,0	1,0			
Emulphor <sup>R</sup> dl- $\alpha$ -tokoferoli				0,05	0,01	0,002		0,01	0,01
Dekstroosi			4						
Bisantreeniemäs				0,5	0,2	0,2		0,2	0,2
Ruisk.tarkeitet- tu vesi	100	100	100	qs	qs	qs	qs	qs	qs

Taulukossa III esitetyn emulsion 3 mukaista lääke-  
aineen antoon tarkoitettua emulsioformulaatiota testattiin  
kahdella eläinlajilla; tällöin tutkittiin perifeerilaski-  
moiden ärsytys sen seikan määrittämiseksi, esiintyikö pai-  
5 kallisja injektiokohdan vastareaktioita. Kokeissa käytet-  
tiin myös liuosta, jossa oli 1,0 mg/ml bisantreenivetyklo-  
ridia 5-prosenttisessä dekstroosi/vesiseoksessa, sekä emul-  
sion 3 kantoainetta ilman bisantreeniemästä. Käytetyt kaksi  
eläinlajia olivat kaniini ja koira. Formulaatioita annet-  
10 tiin intravenöösisti perifeerilaskimoon käyttäen Butterfly-  
infuusiosettiä (Becton, Dickinson Co., Rutherford, N.J.).  
Kaniinilla käytettiin korvanreunan laskimoa ja koiralla jal-  
kavarren iholaskimoa tai jalan päälaskimoa.

Formulaatioita annettiin hitaana laskimoinfuusiona  
15 käyttäen Sage-ruiskupumppua (Sage Instruments, Orion Rese-  
arch Inc., Cambridge, Ma.) kahden tunnin ajan. Eläimet  
olivat kokeen ajan sidottuina mutta nukuttamattomina. Infuu-  
sion jälkeen eläimet palautettiin häkkeihinsä ja niille  
tarjottiin ruokaa. Eläimet tapettiin vuorokauden kuluttua  
20 infuusiosta.

Kun eläimet tapettiin, infuusiolaskimo avattiin  
infuusio kohdasta ja kardiointiin useiden senttimetrien mat-  
kalta. Laskimon tila, sen sisäkalvo ja ympäröivä perusku-  
dos sekä oranssinkeltaisen materiaalin ja/tai hyytymien  
25 läsnäolo tai puuttuminen laskimossa todettiin ja on esi-  
tetty taulukoissa IV ja V. Vertailukoetulokset osoitta-  
vat lopullisesti, että kun bisantreeniemästä annettiin  
lääkeaineen antoon tarkoitettussa emulsiosysteemissä in-  
fuusiona kaniinien korvanreunan laskimoon ja koirien peri-  
30 feerilaskimoon, suonon onteloon ei muodostunut keltaisia  
tai oranssinkeltaisia saostumia, joita oli tuloksena, kun  
bisantreenihydrokloridia annettiin 5-prosenttisessä dekst-  
roosin ja ruiskeisiin tarkoitettun veden seoksessa samalla  
tavalla infuusiona. Kuvat 3, 4 ja 5 koostuvat koirien  
35 avattuja perifeerilaskimoita esittävästä valokuvista ja  
ne vahvistavat edellä kuvatut havainnot.

## Taulukko IV

Vertailevat toksisuusarvot, jotka on saatu annettaessa laskimoruiskeena bisantreeniemästä sisältävää emulsiioformulaatiota, emulsiokantoinetta ilman bisantreeniemästä ja bisantreenivetykloridia 5-%:sessa dekstroosi/vesiseoksessa kaniinien korvanreunan las- kimoon; kuolemanjälkeiset kokonaishavainnot

Kantoinne	Suku- puoli	Ulkoinen	Punoi- tava	Turvotus	Keltai- nen saos- tuma	Veren- vuoto	Turvo- tus	Subkutaani	Suoniontelo
Bisantreeni-HCl 5-%:sessa	F	+	++	+	+	-	++	++	++
dekstroosi/vesi- seoksessa	M	-	-	-	-	-	+	-	-
Emulsio nro 3, kantoinne	F	++	-	-	-	++	+	-	-
ilman bisantreeni- emästä	M	-	-	-	-	-	+	-	-
Bisantreeniemästä sisältävä	F	++	+	-	-	++	-	-	++
emulsio nro 3	M	++	+	-	-	+	+	-	-

+ = positiivinen eli läsnä

- = negatiivinen eli puuttuu

## Taulukko V

Akuutin ja paikallisen toksisuuden vertailuarvot, jotka on saatu annettaessa laskimoruiskeena bisantreeniemästä sisältävää emulsiioformulaatiota, emulsiokantoinetta ilman bisantreeniemästä ja bisantreenivetykloridia 5 %:ssa dekstroosi/vesiseoksessa koirien perifeerilaskimoon, kuolemanjälkeiset kokonaishavainnot

Kantoinne	Ulkoineen		Suoniontelo			
	Pun.tai väri- muutos	harm. Turvotus muutos	Kellert. väri- muutos	Veri- hyytymä kelt.saos- tuma	Oranssin- Sisäkalvon kelt. väri	
Bisantreeni-HCl 5-%:ssa dekstroosi/ vesiseoksessa	+	++	-	++ +++	+++ +++	- +
Emulsio nro 3, kantoinne ilman bisantreeniemästä	+	++	-	+	-	-
Bisantreeniemästä sisältävä emulsio nro 3	-	-	-	-	-	-
Bisantreeniemästä sisältävä emulsio nro 3	+	+++ <sup>a</sup> +++ <sup>b</sup>	+	-	-	-
	+	-	+	++	-	-
	-	-	-	-	-	+
	-	-	-	-	-	+

a = yhdisteen purkautuminen suonesta infuusion aikana

b = yhdisteen purkautuminen suonesta infuusion aikana

Kuvassa 3A (ylempi valokuva) koirayksilölle 85321 oli annettu infuusiona bisantreenivetykloridia 5-prosent-

5 sinkeltaisen saostuman. Kuvan 3B valokuvassa (alempi kuva) koirayksilölle 80723 oli annettu infuusiona bisantreeniemästä taulukossa III esitetyssä emulsion 3 koostumuksessa. Valokuva osoittaa, että suoniontelo oli tyhjä edellä mainituista saostumista.

10 Kuvassa 4A (ylempi valokuva) koirayksilölle 78732 oli annettu infuusiona bisantreenivetykloridia 5-prosent-

15 tisessä dekstroosi/WFI:ssä. Tämä valokuva osoittaa taas selvästi suoniontelossa olevat oranssinkeltaiset saostumat, jotka on osoitettu nuolilla, ja tämä kuva on esitetty vertailuna koirayksilölle 80721, kuva 4B (alempi valokuva), jossa eläinten laskimoihin vietiin infuusiona vain 5-prosenttista dekstroosi/WFI-seosta.

20 Kuvassa 5A (ylempi valokuva) koirayksilö 69660 oli saanut infuusiona bisantreeniemästä taulukon III emulsiossa 3. Valokuva osoittaa, että koiran perifeerilaskimon suonionteloon ei ollut muodostunut oranssinkeltaisia saostumia, ja on esitetty vertailuna koirayksilölle 68989, kuva 5B (alempi valokuva), jossa infuusiona oli käytetty vain pelkkää emulsiokantoainetta.

25 Suunniteltiin koe, jonka avulla voitiin verrata vaikutuksia, jotka bisantreeniemäksellä oli, kun sitä annettiin koirille laskimoinfuusiona perifeerilaskimoon verrattuna vaikutuksiin, jotka bisantreenivetykloridilla oli annettuna dekstroosi/vesikantoaineessa samalla tavalla.

30 Käytettiin kaikkiaan 40 eläintä, joista puolet oli uroksia, puolet naaraita. Eläimet jaettiin neljään ryhmään, joissa kussakin oli 5 urosta ja 5 naarasta. Kaikkia ryhmän I eläimiä käsiteltiin pelkällä 5prosenttisella dekstroosi/WFI-kantoaineella. Ryhmän II eläimiä käsiteltiin 2,0

35 mg/ml bisantreenivetykloridia sisältävällä 5-prosentti-

sella dekstroosi/WFI:llä, jota käytettiin annoksena 10 mg/kg tai 340 mg/m<sup>2</sup> infuusioajan ollessa suunnilleen 2 tuntia sekä pelkälle kantoaineelle että bisantreenivetykloridia sisältävälle kantoaineelle. Ryhmän III eläimiä  
 5 käsiteltiin esimerkin 3 emulsiokantoaineella ilman bisantreeniemästä ja ryhmän IV eläimiä käsiteltiin esimerkin 3 emulsiolla annoksena 10 mg/kg tai 340 mg/m<sup>2</sup> infuusioajan ollessa samoin suunnilleen 2 tuntia sekä kantoaineelle pelkästään että bisantreeniemästä sisältävälle  
 10 kantoaineelle. Kaikki ryhmät käsiteltiin samana päivänä esitetyin annoksin ja anto uusittiin joka 21. päivä kaikkiaan kolme kertaa.

Kliinisiin merkkeihin, jotka eläimissä havaittiin kokeen aikana kuuluvat seuraavat: Annettaessa laskimoinfuusiona bisantreenivetykloridia 5-prosenttisessä dekstroosi/WFI-seoksessa ja pelkkää kantoainetta, ei ilmennyt mitään merkkejä, mutta annettaessa bisantreeniemulsiota ja emulsiokantoainetta pelkästään havaittiin jonkin verran ohimenevää punoitusta, suonensisäistä hemolyysiä ja  
 20 hemoglobinuriaa; kaikilla ryhmillä havaittiin pehmeät ulosteet sekä vähentynyt ravinnonkulutus ja kohonnut ruumiinlämpö kummassakin tapauksessa (5-7 vuorokautta käsittelyn jälkeen); turvotusta esiintyi jalassa, johon infuusio oli annettu, kolmella eläimellä, jotka saivat bisantreenivetykloridia, kun taas tätä ei esiintynyt eläimillä, jotka saivat bisantreeniemulsiota.

Ryhmän keskimääräiset valkosolumäärät (WBCx10<sup>-3</sup>) mitattiin vertailukokeessa, joka suoritettiin erikseen kussakin ryhmässä oleville uros- ja naaraseläimille.  
 30 Kaikkien eläinten WBC-lukemat (valkosolumäärät) mitattiin 7 vuorokautta ennen käsittelyä. Käsittely suoritettiin vuorokausina 0, 21 ja 42, jolloin kaikilta eläimiltä mitattiin WBC-lukemat uudelleen vuorokausina 3, 7, 14, 20, 24, 28, 35, 41, 45, 49 ja 56. Tästä kokeesta saadut keskiarvot on esitetty taulukossa VI ja ryhmän valkosolumäärien  
 35





Verrattaessa ja tutkittaessa edellä olevassa kokeessa saatuja tuloksia, tehtiin se johtopäätös, että paikalliset injektiokohdan lääkeainesaostumat tai lääkeaineen sitoutuminen tai tulehdus ja tukkotulehdus puuttuivat käytettäessä bisantreeniemästä emulsioformulaatiossa ja niitä esiintyi, kun käytettiin bisantreenivetykloridiliuosformulaatiota. Veren valkosolulukeman pohja-arvo oli bisantreeniemäsemulsiota käytettäessä samankaltainen suuruudeltaan ja ajan funktiona kuin se oli käytettäessä bisantreenivetykloridia 5-prosenttisessä dekstroosi/WFI-seoksessa. Kokeesta tehtiin myös se johtopäätös, että kliiniset oireet, jotka voivat johtua bisantreenista, olivat samankaltaiset näille kahdelle formulaatiolle, kun taas ohimeneviä lisäsivuvaikutuksia voitiin katsoa johtuviksi emulsiokantoaineesta yleensä ja varsinkin Emulphor EL-620P:stä.

Tässä keksinnössä kuvattuihin aikaisempiin formulaatioihin sisältyy Emulphor<sup>®</sup> EL-620P pinta-aktiivisena aineena emulsion stabiloimiseksi. Muutamissa tapauksissa kirjallisuudessa mainitaan, että ainakin koirakokeissa Emulphor<sup>®</sup> - tai Cremaphor<sup>®</sup> -pinta-aktiiviset aineet voivat aiheuttaa histamiinin vapautumisen tyyppisiä reaktioita kuten lievissä tapauksissa ohimenevää ihottumaa keholla, punaisia täpliä lähellä silmää tai korvan seudulla ja vaikeissa tapauksissa anafylaktisia reaktioita. Myöhemmät tässä keksinnössä kuvatut esimerkit osoittavat, että pystyttiin muodostamaan näitä pinta-aktiivisiä aineita sisältävän stabiili emulsio, joka sisältää veteen niukkaliukoisia hydrofobisia emäksisiä ja/tai happamia lääkeaineita, käytettäväksi parenteraaliseen infuusioon.

Edellä kuvatussa kokeessa bisantreeniemulsiolla ei ollut havaittavissa olevaa vaikutusta eläinten keuhkoihin tai sydän-verisuonitoimintoihin; tämä todettiin fyysikaalisella tutkimuksella, EKG:llä, verenpaineesta ja röntgensäteillä.

## Patenttivaatimus

Menetelmä homogenisoidun farmaseuttisen emulsion valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että

5 (a) muodostetaan ionipari saattamalla hydrofobinen lääkeaine reagoimaan ioniparin muodostajan kanssa, joka on tyydyttynyt tai tyydyttymätön alifaattinen tai aromaattinen C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>-happo, kun hydrofobinen lääkeaine on emäksinen, ja farmaseuttisesti hyväksyttävä alifaattinen  
10 tai aromaattinen amiini, kun hydrofobinen lääkeaine on hapan;

(b) muodostetaan mainitun ioniparin öljy-vedessä-emulsio yhdistämällä siihen vesi, farmaseuttisesti hyväksyttävä öljyinen kantoaine tai öljy, joka on valittu (i)  
15 luonnossa esiintyvistä kasviöljyistä ja (ii) puolisynteettisistä mono-, di- tai triglyserideistä; pinta-aktiivinen aine tai emulgaattori; ja pinta-aktiivinen apuaine tai lisäemulgaattori; ja homogenisoidaan emulsio paineessa 55,16-103,43 MPa (8000-15000 psi) emulsion hiukkaskoon  
20 pienentämiseksi alueelle 0,170-0,5 mikrometriä.

## Patentkrav

Förfarande för framställning av en homogeniserad farmaceutisk emulsion, k ä n n e t e c k n a t därav, att man

5

a) bildar ett jonpar genom att omsätta ett hydrofobt läkemedel med en jonparsbildare, som är en mättad eller omättad, alifatisk eller aromatisk  $C_6$ - $C_{20}$ -syra då det hydrofoba läkemedlet är basiskt, och en farmaceutiskt godtagbar alifatisk eller aromatisk amin, då det hydrofoba läkemedlet är surt;

10

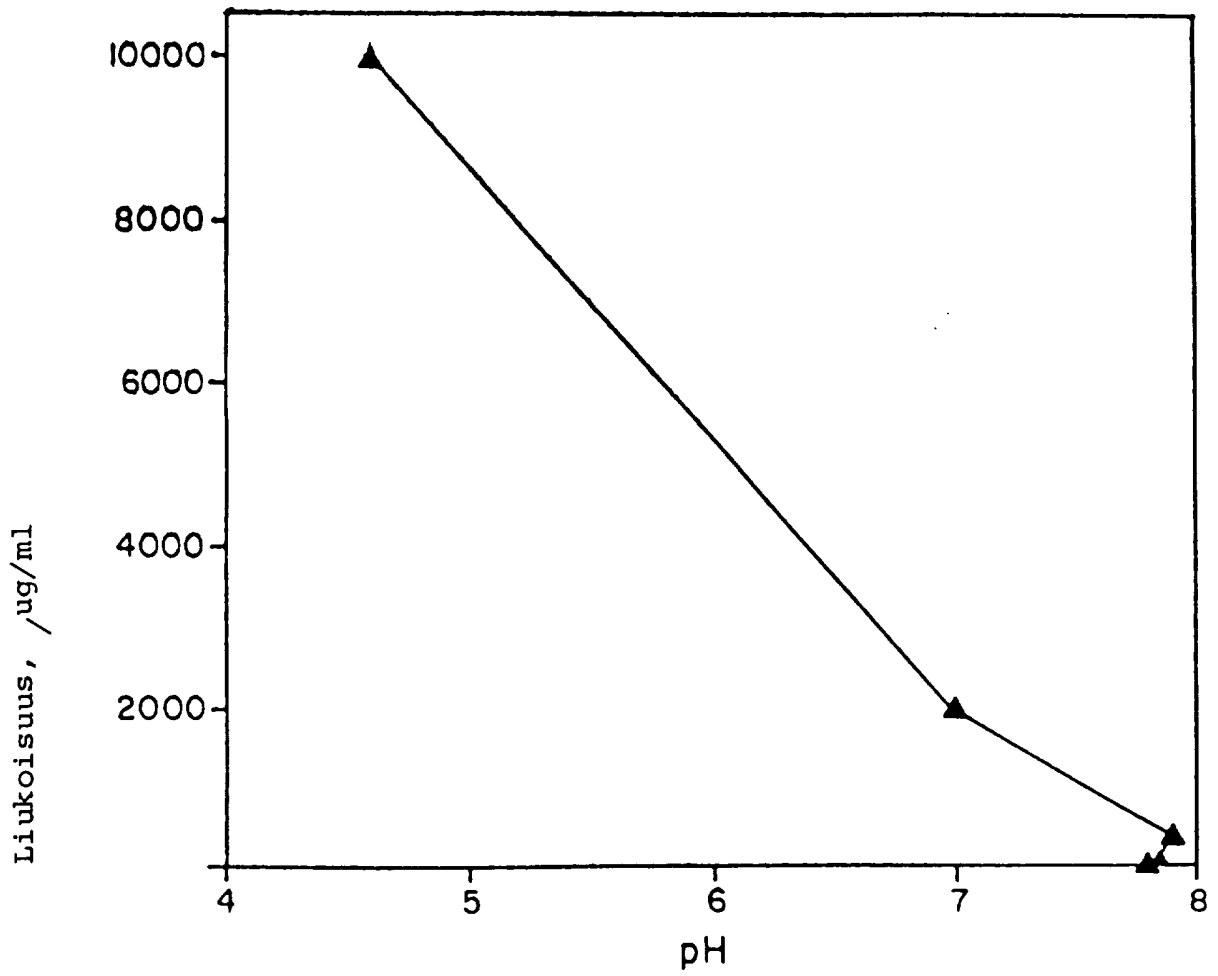
b) bildar en olja-i-vatten-emulsion av nämnda jonpar genom att kombinera med detta vatten, ett farmaceutiskt godtagbart oljigt bärarämne eller olja, som valts bland (i) i naturen förekommande växtoljor och (ii) halv-syntetiska mono-, di- eller triglycerider; ett ytaktivt medel eller emulgator; och ett ytaktivt hjälpmedel eller en ytterligare emulgator; och homogeniserar emulsionen vid ett tryck av 55,16-103,43 MPa (8000-15000 psi) för minskning av emulsionens partikelstorlek till ett område av 0,170-0,5 mikrometer.

20



86142

Bisantreenin liukoisuus valittuihin väliaineisiin



KUVA 2

86142

317



FIG. 3A

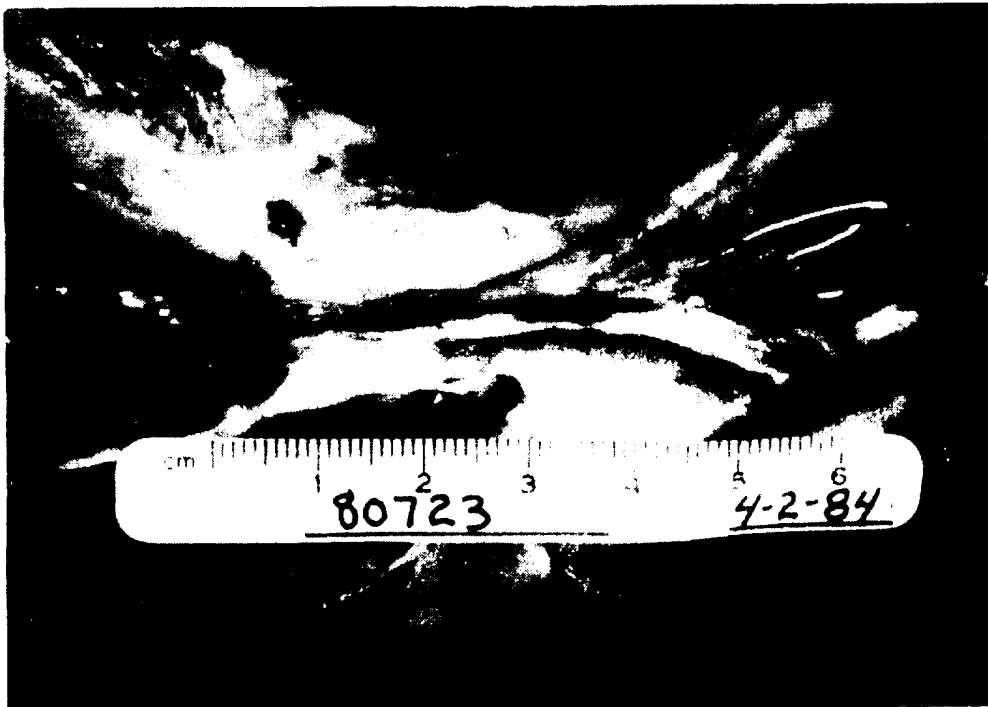


FIG. 3B

86142

417

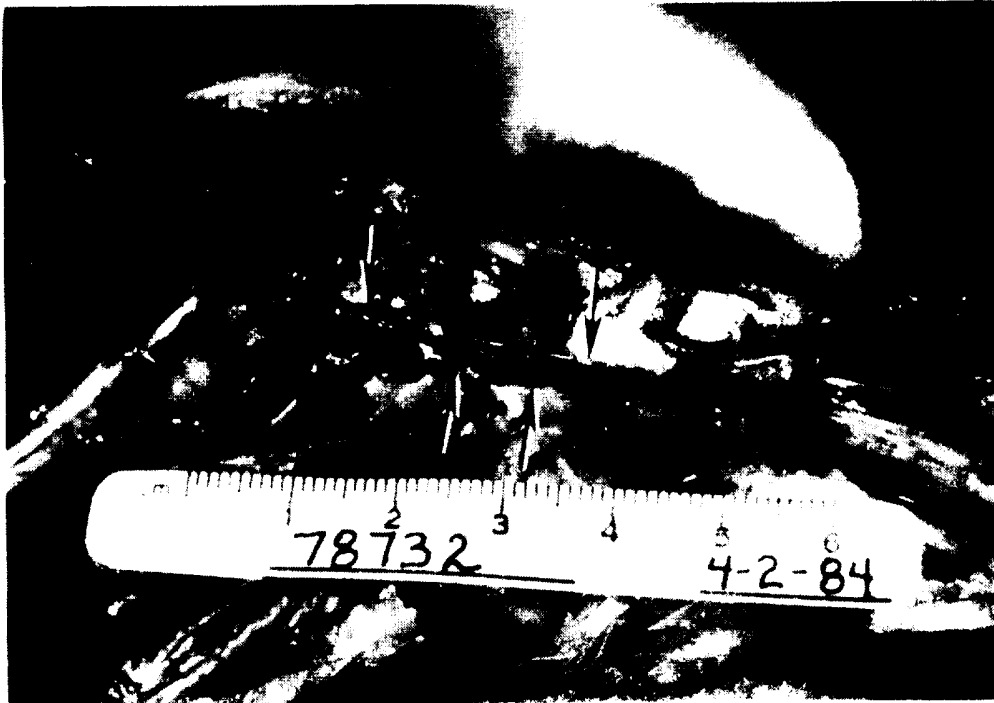


FIG. 4A

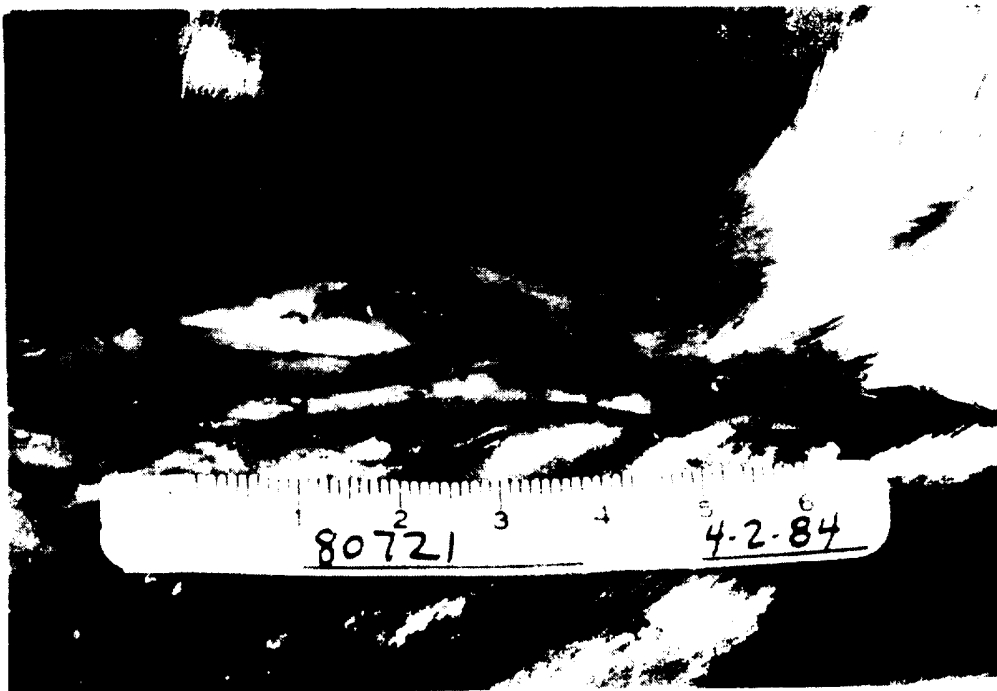


FIG. 4B

86142

517



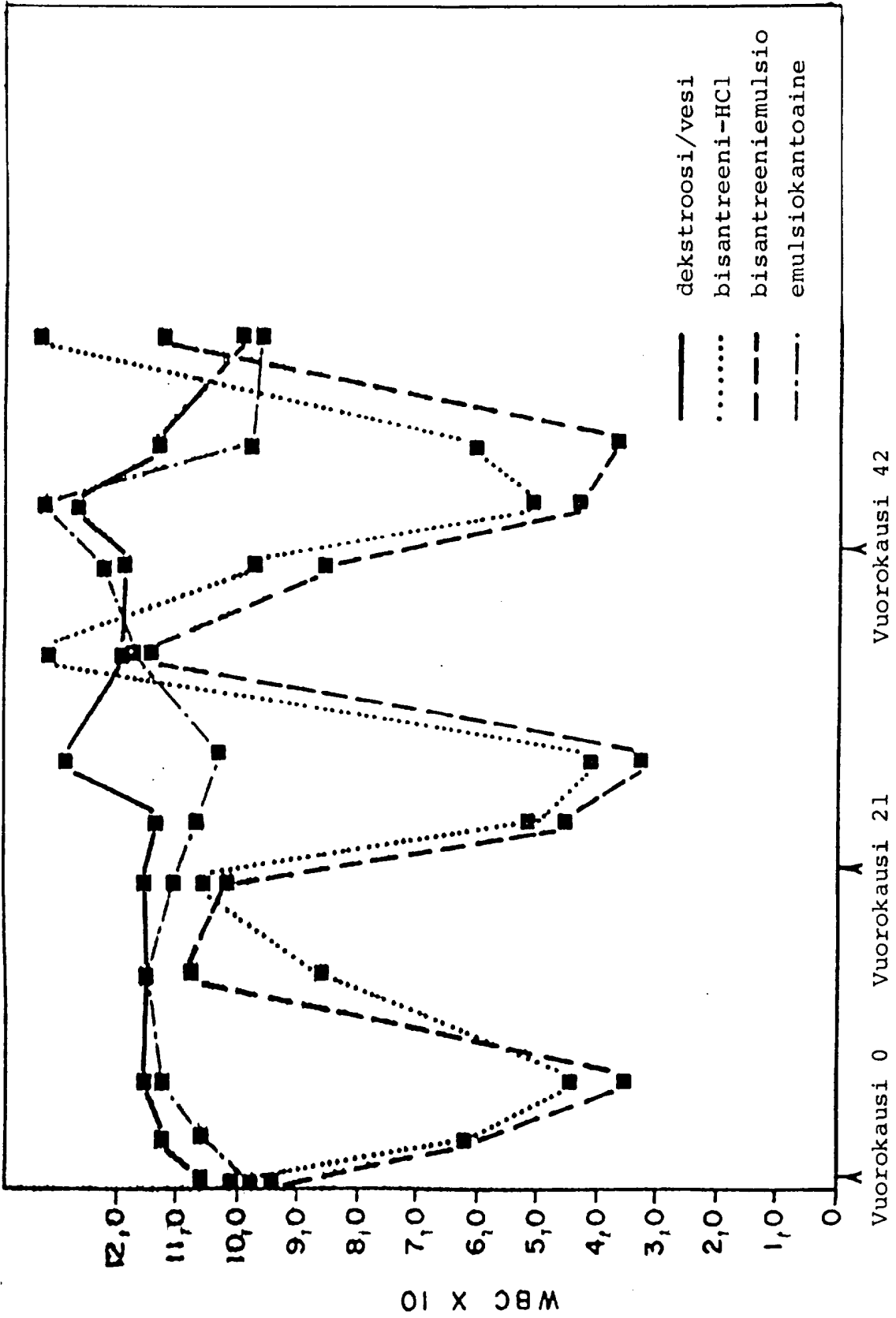
FIG.5A



FIG.5B



Veren valkosolumäärien keskiarvo ryhmässä (naaraat)



KUVA 7