



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **329727**

(13) **B1**

**NORGE**

(51) Int Cl.

*A61K 9/127 (2006.01)*

*A61K 31/16 (2006.01)*

*A61K 31/167 (2006.01)*

*A61K 31/40 (2006.01)*

*A61K 31/445 (2006.01)*

*A61P 23/02 (2006.01)*

## Patentstyret

|      |                       |                                                                                                                                                                                                                 |      |                           |                                |
|------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------|--------------------------------|
| (21) | Søknadsnr             | 20001410                                                                                                                                                                                                        | (86) | Int.inng.dag og søknadsnr | 1998.09.18<br>PCT/US1998/19583 |
| (22) | Inng.dag              | 2000.03.17                                                                                                                                                                                                      | (85) | Videreføringsdag          | 2000.03.17                     |
| (24) | Løpedag               | 1998.09.18                                                                                                                                                                                                      | (30) | Prioritet                 | 1997.09.18, US, 59233          |
| (41) | Alm.tilgj             | 2000.05.15                                                                                                                                                                                                      |      |                           |                                |
| (45) | Meddelt               | 2010.12.06                                                                                                                                                                                                      |      |                           |                                |
| (73) | Innehaver             | Pacira Pharmaceuticals Inc, 10450 Science Center Drive, US-CA92121 SAN DIEGO, USA<br>Sinil Kim, Solana Beach, CA, US-, USA<br>Sharad Murdandi, San Diego, CA, US-, USA<br>Taehee Kim, Los Angeles, CA, US-, USA |      |                           |                                |
| (72) | Oppfinner             |                                                                                                                                                                                                                 |      |                           |                                |
| (74) | Fullmektig            |                                                                                                                                                                                                                 |      |                           |                                |
|      |                       | Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge                                                                                                                                                         |      |                           |                                |
| (54) | Benevnelse            | <b>Liposomale farmasøytiske blandinger samt fremgangsmåte for fremstilling og anvendelse derav</b>                                                                                                              |      |                           |                                |
| (56) | Anførte publikasjoner | US 4946683 , WO 96/08235 A1                                                                                                                                                                                     |      |                           |                                |
| (57) | Sammendrag            |                                                                                                                                                                                                                 |      |                           |                                |

Det er beskrevet en fremgangsmåte for oppnåelse av lokal anestesi innkapslet i liposomer, så som multivesikulære liposomer, med høy innkapslingseffektivitet og med sakte frigjøring in vivo. Når det innkapslede bedøvelsesmidlet blir administrert som en enkelt intrakutan dose blir varigheten av bedøvelsen og halveringstiden til medikamentet ved det lokale injeksjonssete forøket sammenlignet med injeksjon av ikke innkapslet bedøvelsesmiddel. Maksimalt tolerert dose av innkapslet bedøvelses- middel blir også betydelig forøket i den liposomale formuleringen i forhold til injeksjon av ikke innkapslet bedøvelsesmiddel. Disse resultatene viser at den liposomale formuleringen lokalbedøvelse er nyttig for vedvarende lokal infiltrering og nerve- blokk anestesi.

Foreliggende oppfinnelse vedrører liposomale farmasøytiske blandinger samt fremgangsmåte for fremstilling og anvendelse derav. Virkningsvarigheten til lokal anestesi etter administrering er vanligvis tilstrekkelig lenge for å unngå smerte i løpet av de fleste kirurgiske prosedyrene. Virkningsvarigheten er derimot ikke lenge nok for å omfatte de fleste post-operative smertene, eller smerter fra mange invasive diagnostiske prosedyrer eller skader. Kontinuerlig infusjon eller gjentatt infiltrering av lokal anestesi i et kirurgisk sår, diagnostisk "port" eller sårsete er upraktisk. En formulering med vedvarende frigjøring av et lokalt bedøvelsesmiddel vil være nyttig for håndtering av smerter, vanligvis i lys av den pågående trenden med kirurgi av ikke innlagte pasienter og helsesentere for akutte tilfeller. Slike formuleringer er fortrinnsvis nyttige i traumer og ved diagnostisk smerte.

Flere metoder for å utvikle formuleringer med vedvarende frigjøring av lokal anestesi er blitt beskrevet i litteraturen. For eksempel er polylaktisk-ko-glykolsyre-polymermikrosfærer inneholdende både bupivakain og deksametason blitt produsert med lang varighet ved lokal anestesi. Krystallinske former av lokal anestesi er også  
5 blitt vist å ha lang virkningsvarighet. Lipofil bupivakainfri-base inkorporert i membraner til multilamilære liposomer og proton-gradient-belastede store unilamilære liposomer har vist effektivitet som varer i 6-11 timer.

Multivesikulære liposomer (MVL) er blitt utviklet som et lipid-basert medikamentleveringssystem med vedvarende frigjøring for lokal, regional eller  
10 systemisk medikamentlevering. Vedvarende frigjøring av mange vann-stabile medikamenter innkapslet i MVL er blitt vist i dyremodeller via intratekale, subkutane, intraperitoneale og epidurale administrasjonsveier, samt i humane pasienter via intracerebroventrikulære, intratekale, subkutane og epidurale veier. Et multisenter, randomisert fase III klinisk forsøk til en MVL formulering av det cytotoksiske midlet  
15 cytarabin har vist at denne formuleringen er mer effektiv enn fri cytarabin ved behandling av leptomengial karcinom.

MVL er definert som liposomer inneholdende en mengde ikke-konsentriske rom innenfor hver liposompartikkel som ligner en "skum-lignende" matriks. Slike partikler kan skjelnes fra multilamilære vesikler (MLV), også kjent som et multi-  
20 lamilært liposom, som inneholder multiple konsentriske rom innenfor hver liposom-

partikkel. En ytterligere bestemt partikkel er den unilamilære vesikkelen (ULV) også kjent som et unilamilært liposom, som inneslutter et enkelt indre vandig rom.

Foreliggende oppfinnelse vedrører MVL. Kjent teknikk beskriver fremstilling av MVL (Kim et al., Biochim. Biophys. Acta 728, 339-348, 1983).

5        Mange kationiske biologiske aktive forbindelser anvendt i MVL innkapslings-teknikker blir anvendt som salter av monoprotiske mineralsyrer (for eksempel som hydrokloridsalter). Kjent teknikk har anvendt slike vanlige tilgjengelige monoprotiske mineralsyresalter av kationiske biologiske aktive forbindelser for innkapsling i liposomer uten modifikasjon til et salt av diprotisk eller triprotisk mineralsyre. Kjent  
10        teknikk har også anvendt organiske syrer så som sitronsyre eller glutaminsyre for å oppnå innkapsling.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer lokale bedøvelsesmidler innkapslet i multivesikulære liposomer (MLV), dvs. lipidvesikler med multiple ikke-konsenteriske indre vandige rom som har indre membraner fordelt som et nettverk gjennom MVL.  
15        Rommene inneholder syrer som er effektive for å muliggjøre innkapsling av visse bedøvelsesmidler og å modulere frigjøringsraten til det innkapslede bedøvelsesmidlet. Oppfinnelsen tilveiebringer også fremgangsmåte for fremstilling av slike blandinger samt anvendelse derav.

Foreliggende oppfinnelse vedrører følgende farmasøytisk blanding,  
20        kjennetegnet ved at den omfatter et multivesikulært liposom som omkapsler bupivakain, idet nevnte multivesikulære liposom omfatter bupivakain eller et salt derav; minst en syre valgt fra gruppen bestående av en diprotisk mineralsyre, en triprotisk mineralsyre og et polyhydroksykarboksylat eller kombinasjoner derav; en lipid komponent omfattende minst et amfipatisk lipid og minst et nøytralt lipid som  
25        mangler en hydrofil hodegruppe; og, eventuelt, et kolesterol og/eller et plantesterol.

Kjent teknikk har anvendt vanlige tilgjengelige monoprotiske (for eksempel hydroklorid eller glutaminsalter) av biologisk aktive forbindelser. Dette har resultert i enten uakseptable formuleringer for innkapsling av de biologisk aktive forbindelsene i MVL eller meget lav innkapslingseffektivitet. Oppfinnelsen er et resultat av det  
30        overraskende funnet som omfatter at innlemming av den frie baseformen av bedøvelsesmiddelforbindelser oppløst med fosforsyre, eller med omdanning av

vanlige tilgjengelige hydrokloridsalter av bedøvelsesmiddelforbindelsene inn i fosfat (salt av triprotisk mineralsyre) eller sulfatsalter (salter av diprotisk mineralsyre) for innlemming i MVL resulterer i betydelig forbedret innkapslingseffektivitet samt vedvarende frigjøring i biologisk relevant medium. Polyalkoholiske organiske syrer så  
5 som glukuronsyre eller glukonsyre er også innbefattet, hvori en slik syre er ko-innkapslet med bedøvelsesmidler for å assistere innkapsling og å tilveiebringe vedvarende frigjøring av bedøvelsesmidlet. Det er overraskende at polyalkoholiske organiske syrer er overlegne i forhold til ikke-polyalkoholiske organiske syrer som gir preparater med større innkapslingseffektivitet og vedvarende frigjøring av  
10 bedøvelsesmidlet. Polyalkoholiske organiske syrer forbedrer i stor grad innkapsling av bedøvelsesmidlet og akseptbarheten til formuleringen. Sulfatsalter og et antall andre salter krever tilsetning av slike syrer for å danne akseptable formuleringer.

Når innkapslet bedøvelsesmiddel blir administrert som en enkelt intrakutan eller subkutan dose blir varigheten av anestesi og halveringstiden til medikamentet  
15 ved det lokale injeksjonsstedet forøket sammenlignet med injeksjon av ikke innkapslet bedøvelsesmiddel. Maksimalt tolerert dose av innkapslet bedøvelsesmiddel blir også i betydelig grad øket i den liposomale formuleringen i forhold til injeksjon av ikke innkapslet bedøvelsesmiddel.

Den viktigste anvendelsen ifølge oppfinnelsen er for fremstilling av  
20 formuleringer med vedvarende frigjøring av biologisk aktive forbindelser som har høye diffusjonsrater gjennom lipidbilagmembraner. Både anvendelse av diprotiske og triprotiske mineralsyresalter av biologisk aktive forbindelser og ko-innkapsling av polyalkoholiske organiske syrer muliggjør at disse medikamentene som er vanskelig å innkapsle lett blir innkapslet og blir sakte frigjort.

25 Andre trekk og fordeler ifølge oppfinnelsen vil fremkomme ut fra følgende detaljerte beskrivelse og krav.

## KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

30 Fig. 1A angir en graf som viser anesteseffekten (antall ikke-responser overfor seks pinne-stikk) som en funksjon av tid etter en enkelt intrakutan dose av MVL-innkapslet bupivakainfosfat inneholdende forskjellige konsentrasjoner bupivakain.

Fig. 1B er en graf som viser anesteseeffekten (antall ikke-responser overfor seks pinne-stikk) som en funksjon av tiden etter en enkelt intrakutan dose av ikke innkapslet bupivakainhydroklorid ved forskjellige konsentrasjoner.

Fig. 2 er en graf som viser en sammenligning av anestesisvarighet til formuleringene ifølge figurene 1A (MVL-innkapslet bupivakainfosfat, fylte sirkler) og 1B (innkapslet bupivakainhydroklorid, åpne sirkler) som kvantifisert ved "tid til halv maksimal respons ( $R_3$ )" (ordinat) mot konsentrasjonen til administrert dose (absisse).

Fig. 3A er en graf som viser total mengde bupivakain (mg) som er igjen ved et injeksjonssete opptil 72 timer etter en enkelt intrakutan dose av MVL-innkapslet bupivakainfosfat (fylte sirkler) eller ikke innkapslet bupivakainhydroklorid (åpne sirkler).

Fig. 3B er en graf som viser serumkonsentrasjoner av bupivakain ( $\mu\text{g/ml}$ ) opptil 72 timer etter en enkelt intrakutan dose av MVL-innkapslet bupivakainfosfat ved en konsentrasjon på 1,0% (w/v) bupivakain (fylte sirkler) eller 0,5% (w/v) av ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid (åpne sirkler).

Postoperativ eller post-traumesmerter antas å være den mest intense ved øyeblikkelig post-operativ eller post-skade og påfølgende 24 timers periode. Det er mulig at forbedret kontroll av postoperativ smerte kan redusere lunge og mave-tarmkomplikasjoner og kanskje også forkorte opphold på sykehus. Systemisk opiater vanligvis anvendt for å kontrollere smerte i løpet av denne post-operative perioden kan undertrykke lungefunksjonen og redusere mave-tarm helbredelse. Andre anti-nociceptive midler som ikke-steroidal anti-inflammatorisk middel ketorolaktrometamin kan øke blødningen og mave-tarm irritasjonen i denne stressperioden. På grunn av at nociceptivt stimuli som oppstår etter kirurgiske intervensjoner og traumatisk skade vanligvis er lokal eller regional i opprinnelse er forlenget lokal eller regional sensorisk blokkering for smertekontroll et spennende konsept. Det antas følgelig at forbedret behandling med lokale bedøvelsesmidler innbefatter opprettholdelse av bedøvelsesnivået i en lengre tidsperiode. Halveringstiden til mange bedøvelsesmidler er derimot meget kort etter en intraperitoneal (IP), intravenøs (IV), intratekal (IT), intraartikulær (IA), intramuskulær (IM) eller subkutan (SE) dose. Et preparat med sakte frigjøring som tilveiebringer en forlenget og vedvarende utsetting ved en terapeutisk

konsentrasjon av et lokalt bedøvelsesmiddel er det behov for. Foreliggende oppfinnelse er rettet mot fremstilling, blanding og anvendelse av et slikt preparat.

Hvis ikke definert på annen måte har alle tekniske og vitenskapelige betegnelser anvendt heri samme betydning som det som er kjent for fagfolk innenfor dette område. Til tross for at metoder og materialer som ligner de som er beskrevet heri kan bli anvendt ved praktisering eller testing av foreliggende oppfinnelse, er egnede metoder og materialer beskrevet nedenfor

## BEDØVELSESMIDLER

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer forlenget frigjøring av lokale bedøvelsesmidler, spesielt av "amid-type" bedøvelsesmidler, fra MVL etter administrering av blandinger inneholdende MVL. Oppfinnelsen anvender et lokalt bedøvelsesmiddel innkapslet i MVL. Lokalt bedøvelsesmiddel hører generelt til klassen kjent som amid-type bedøvelsesmidler. Navnet kommer fra tilstedeværelse av amid (-NHCO-) bindingen i den sentrale delen av molekylet. Gruppen koblet til nitrogenenden av amidet er en substituert fenyling, spesielt en fenyling inneholdende minst en kortkjedet alkylgruppe, så som metyl, etyl, propyl eller butyl. Eksempler på slike grupper innbefatter 2-metylfenyl, 2,6-dimetylfenyl, 2-etylfenyl, 2,6-dietylfenyl og 2-etyl-6-metylfenyl. Dersom substituentgruppen er 2,6-dimetylfenyl, blir det lokale bedøvelsesmidlet også referert til som 2,6-xytiden bedøvelsesmiddel.

Kryssbundet til CO enden av amidbindingen er betegnet som  $\text{CHR}_1\text{R}_2$ . I den foregående beskrivelsen er  $\text{R}_1$  et sekundært eller tertiært alkylamin så som N-alkylamin eller N,N-dialkylamin. Kortkjedede alkylgrupper (fra 1-4 karbonatomer) er foretrukket. Eksempler innbefatter N-metylamin, N-etylamin, N-propylamin, N-butylamin, N,N-dimetylamin, N,N-dietylamin, N-etyl-N-metylamin og lignende konstruerte substituenten. Tre- eller fire-leddede alkylkjeder kan ha en hvilken som helst konfigurasjon, dvs. lineær (n-alkyl) eller forgrenet (iso-, sec-, eller tert-alkyl). Alternativt kan  $\text{R}_1$  være en sekundær eller tertiær alkylenaminogruppe, med ytterligere koblinger til  $\text{R}_2$ . For eksempel kan  $\text{R}_1$  og  $\text{R}_2$  bli koblet til en sekundær eller

tertiær nitrogen-inneholdende alkylkjede, for å danne en N-alkylsubstituert piperidin eller pyrrolidinring. I slike eksempler er N-alkylgruppen fortrinnsvis en kort kjede (1-4 karbonatomer), så som N-metyl, N-etyl, N-propyl eller N-butyl, hvor kjeden kan være lineær eller forgrenet.  $R_1$  og  $R_2$  koblende substituent kan være 2-piperidyl, 2-pyrrolidyl, 3-piperidyl, 3-pyrrolidyl, 4-piperidyl eller 4-pyrrolidyl. Det er foretrukket at substituenten dannet fra  $R_1$  og  $R_2$  er koblet av en sekundær eller terciær nitrogen-inneholdende alkylenkjede er 2-piperidyl eller 2-pyrrolidyl. Stereokjemien til forbindelsene kan være enten R eller S, avhengig av den mest effektive aktiviteten til bedøvelsesmidlet. For eksempel finnes kommersielt tilgjengelig ropivakain i (S)(-) konfigurasjon. Bupivakain finnes også i formen kjent som levo-bupivakain. I foregående beskrivelse er  $R_2$  enten hydrogen, kortkjedet alkyl (inntil 4 karbonatomer) eller en sekundær eller terciær alkylenaminokjede som er koblet til  $R_1$ , som beskrevet ovenfor.

Bedøvelsesmidlene bør være tilstede i blandingene i konsentrasjoner på omtrent 0,01% til omtrent 5,0% w/v, eller fortrinnsvis fra omtrent 0,5% til omtrent 2% w/v. Vektprosentandelene er definert som vekt av bedøvelsesmiddel pr. volum MVL.

De frie baseformene av lokale bedøvelsesmidler ifølge oppfinnelsen kan bli oppløste. Det er ønskelig at den vann-oppløselige saltformen blir dannet for lagring og levering fra MVL. Saltformen kan bli introdusert til den første vandige fasen av MVL som den er, eller kan bli dannet ved tilsetning av fri baseform, og tilstrekkelig syre for å oppløse bedøvelsesmidlet i tilstrekkelig grad. Saltet kan være et hvilket som helst farmasøytisk akseptabelt di- eller tri-protisk mineralsalt, så som fosfat eller sulfonatsalt. Også nyttig som polyhydroksylkarboksylsyresalter av bedøvelsesmidlet, så som tartrat, glukonat eller glukonuratsalter. Kombinasjoner av slike salter er foretrukket som komponenter av den første vandige fasen av de oppfinneriske blandingene. Amid-type bedøvelsesmidler er følgelig tilstede i de farmasøytiske blandingene ifølge oppfinnelsen i form av polyhydroksylkarboksylatsalter og di- og triprotiske mineralsalter. Foretrukne utførelsesformer av oppfinnelsen omfatter de med en binær blanding av amid-type bedøvelsesmiddelsalter, en avledet fra en polyhydroksylkarboksylsyre og den andre avledet fra en di- eller tri-protisk mineralsyre.

## MULTIVESKIKULÆRE LIPOSOMER

Bedøvelsesmiddelblandingen ifølge oppfinnelsen innbefatter også multi-vesikulære liposomer (MVL) som innkapsler og tilveiebringer modulert og vedvarende frigjøring av bedøvelsesmidlene beskrevet ovenfor. MVL blir dannet ved følgende prosess. En "vann-i-olje" type emulsjon inneholdende et ikke-hydrohalinsyresalt av hvilke som helst av bedøvelsesmidlene beskrevet ovenfor blir dannet fra to ikke-blandbare faser, en lipidfase og en første vandig fase.

Lipidfasen blir dannet av minst ett amfipatisk lipid og minst ett nøytralt lipid i et flyktig organisk løsningsmiddel. Betegnelsen "amfipatisk lipid" refererer til molekyler som har en hydrofil "hodegruppe" og en hydrofob "halegruppe" og kan ha membran-dannende evne. Som anvendt heri innbefatter amfipatiske lipider de som har en netto negativ ladning, en netto positiv ladning og zwitterioniske lipider (som ikke har netto ladning ved deres isoelektriske punkt). Betegnelsen "nøytralt lipid" refererer til oljer eller fettstoffer som ikke har noen vesikkel-dannende evne i seg selv, og som mangler en ladet eller hydrofil "hodegruppe". Eksempler på nøytrale lipider innbefatter, men er ikke begrenset til, glycerolestere, glykolestere, tokoferolestere, sterolestere som mangler en ladet eller hydrofil "hodegruppe", og alkaner og skvalener.

Amfipatisk lipid blir valgt fra en rekke lipider som har en hydrofob region og en hydrofil region i samme molekyl. Egende amfipatiske lipider er zwitterioniske fosfolipider, inkludert fosfatidylkolin, fosfatidyletanolaminer, sfingomyeliner, lysofosfatidylkolin og lysofosfatidyletanolaminer. Også egnede er anioniske amfipatiske fosfolipider så som fosfatidylglyceroler, fosfatidylseriner, fosfatidylinositoler, fosfatidinsyrer og kardiolipiner. Også egnede er kationiske amfipatiske lipider så som acyltrimetylammoniumpropaner, diacyldimetylammoniumpropaner og stearylamin.

Egende nøytrale lipider er triglycerider, propylenglykolestere, etylenglykolestere og skualen. Eksempler på triglycerider nyttige i foreliggende oppfinnelse er triolein, tripalmitolein, trimyrstolein, trilinolein, tributyrin, trikaproin, trikaprylin og trikaprin. Fettkjedene i triglyceridene nyttige i foreliggende oppfinnelse kan alle være like, eller så behøver ikke alle være like (blandet kjedet triglycerider), inkludert alle



forskjellige. Både mettede og umettede fettkjeder er nyttige i foreliggende oppfinnelse. Propylenglykolestere kan være blandede diestere av kapryl og kaprinsyrer.

Mange typer av flyktige organiske løsningsmidler kan bli anvendt i foreliggende oppfinnelse, inkludert etere, estere, halogenerte etere, hydrokarboner, halogen-  
5 hydrokarboner eller freoner. For eksempel er dietyleter, kloroform, tetrahydrofuran, etylacetat, furan og hvilke som helst kombinasjoner derav nyttige for anvendelse ved fremstilling av bedøvelsesmiddelblandingene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Eventuelt, men meget ønskelig, blir andre komponenter også inkludert i lipidfasen. Blant disse er kolesterol og plantesteroler.

10 Den første vandige fasen innbefatter et bedøvelsesmiddel, minst en polyhydroksykarboksytsyre og minst en di- eller tri-protisk mineralsyre. I noen utførelsesformer ifølge oppfinnelsen er også saltsyre inkludert. Saltsyren er ikke en essensiell bestanddel, men er valgfri og ønskelig i noen utførelsesformer. Di- eller tri-protiske mineralsyrer innbefatter svovelsyre og fosforsyre. Også innbefattet i den  
15 første vandige fasen er slike polyhydroksykarboksylsyrer som glukuronsyre, glukonsyre og vinsyre. Di- og tri-protiske mineralsyrer og polyhydroksyorganiske syrer er tilstede i den første vandige fasen i konsentrasjoner i på fra 0,1 mm til omtrent 0,5 mm, eller fortrinnsvis fra omtrent 5 mm til omtrent 300 mm. Når saltsyre blir anvendt er den tilstede i lavere mengder, fra omtrent 0,1 mm til omtrent 50 mm, eller  
20 fortrinnsvis fra omtrent 0,5 mm til omtrent 25 mm.

Lipidfasen og den første vandige fasen blir blar 32972 I mekanisk turbulens, så som ved anvendelse av roterende eller vibrerende blader, risting, ekstrusjon gjennom ledeplatestrukturer eller porøse rør, ved ultralyd eller ved dyseatomisering, for å produsere en vann-i-olje-emulsjon. Bedøvelsesmidlene ifølge foreliggende  
25 oppfinnelse blir følgelig innkapslet direkte i første trinn av MVL fremstillingen.

Total vann-i-olje-emulsjon blir deretter dispergert inn i en andre vandig fase ved hjelp av midler beskrevet ovenfor for å danne løsningsmiddelsfæruler suspendert i den andre vandige fasen. Betegnelsen "løsningsmiddelsfæruler" refererer til mikroskopiske sfæroiddråper av organisk løsningsmiddel hvori det er suspendert en  
30 mengde mindre dråper av den vandige løsningen. Resulterende løsningsmiddel-sfæruler inneholder derfor en mengde vandige dråper hvor bedøvelsesmidlet er

oppløst. Den andre vandige fasen kan inneholde ytterligere komponenter så som glukose og/eller lysin.

Det flyktige organiske løsningsmidlet blir deretter fjernet fra sfærulene, blant annet overflateavdampning fra suspensjonen. Når løsningsmidlet er vesentlig eller  
5 fullstendig avdampet blir MVL dannet. Gasser som kan bli anvendt for avdampning innbefatter nitrogen, argon, helium, oksygen, hydrogen og karbondioksid. Alternativ kan det flyktige løsningsmidlet bli fjernet ved spraying, roterende avdampning eller ved anvendelse av løsningsmiddelselektive membraner.

Foreliggende oppfinnelse vedrører følgende en fremgangsmåte for fremstilling  
10 av en multivesikulær liposomal blanding inneholdende bupivakain, kjennetegnet ved at den omfatter:

- a) fremstilling av en første vandige komponent omfattende en syre i tilstrekkelig mengde for å oppløse bupivakain eller et salt derav, idet nevnte syre er valgt fra gruppen bestående av polyhydroksykarboksylat, diprotisk mineralsyre,  
15 triprotisk mineralsyre og kombinasjoner derav;
- b) fremstilling av en lipidkomponent omfattende minst et organisk løsningsmiddel, minst et amfipatisk lipid og minst et nøytralt lipid som mangler en hydrofil hodegruppe;
- c) blanding av nevnte første vandige komponent og nevnte lipidkomponent  
20 for å danne en vann-i-olje emulsjon, hvor minst en komponent omfatter bupivakain eller et salt derav;
- d) blanding av nevnte vann-i-olje emulsjon med en andre vandige komponent for å danne løsningsmiddelsferuler; og
- e) fjerning av det organiske løsningsmiddelet fra løsningsmiddelsferulene  
25 for å danne multivesikulære liposomer.

Foreliggende oppfinnelse vedrører videre anvendelse av den farmasøytiske blandingen ifølge krav 1, for fremstilling av et medikament for lokalbedøvning av et individ ved injisering av medikamentet subkutant, intrakutant, ved infiltrering eller via en nerveblokk til et individ med behov for dette.

## FREMGANGSMÅTE FOR TILVEIEBRINGING AV BEDØVELSE

Det kan tilveiebringes regional bedøvelse til et individ ved administrering av de krevde bedøvelsesmiddel-blandingene enten intrakutant, subkutant eller via en lokal  
5 eller regional nerveblokk. Dosene kan bli administrert enten som en nerveblokk (inkludert til grensen virkende som en motorblokk) eller som en sensorisk blokk. Betegnelsen "terapeutisk effektiv mengde" når det gjelder blandinger ifølge oppfinnelsen betyr at bedøvelsesmidlet som er tilstede i den første vandige fasen innenfor MVL blir frigjort på en måte som er tilstrekkelig for å oppnå et bestemt  
10 antestesisnivå. Nøyaktige doseringer vil variere avhengig av slike faktorer som det bestemte bedøvelsesmidlet, samt pasientfaktorer så som alder, kjønn, generell tilstand og lignende. Fagfolk innenfor dette området kan lett ta med disse faktorene i betraktning og anvende dem for å etablere effektive terapeutiske konsentrasjoner uten å ty til unødig eksperimentering.

15 Doseringsområdet hensiktsmessig for human anvendelse vil generelt innbefatte området fra omtrent 20 mg til omtrent 300 mg av totalt bedøvelsesmiddel. Den øvre grensen er begrenset til toksisiteten til det bestemte bedøvelsesmidlet, og den lavere grensen er omtrent 10% av den øvre grensen.

Oppfinnelsen vil bli ytterligere beskrevet i følgende eksempler.

20

### EKSEMPLER

Følgende eksempler illustrerer fremstillingen og egenskapene til visse utførelsesformer ifølge foreliggende oppfinnelse.

#### 25 **Eksempel 1: Fremstilling av bupivakain-fosfat-inneholdende MVL**

Bupivakainhydroklorid (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) ble omdannet til bupivakainfosfat ved innledende presipitasjon av vandig bupivakainhydroklorid med 1N natriumhydroksid for å fremstille den frie basen. Presipitatet ble omfattende vasket med vann og deretter omdannet til fosfatsalt med en ekvimolar mengde fosforsyre.

30 For hver batch av formuleringen ble 5 ml av en diskontinuerlig første vandig komponent inneholdende 60 mg/ml bupivakainfosfat, 150 mm glukuronsyre, 15 mn

saltsyre og 20 mm fosforsyre tilsatt til en blandingsbeholder inneholdende en lipidkomponent inneholdende 5 ml USP kloroform (Spectrum Chemical Co., Gardena CA) som løsningsmiddel og 18,6 mm 1,2-dierucoyl-*sn*-glycero-3-fosfokolin (DEPC), 4,2 mm dipalmitoylfosfatidylglycerol (Avanti Polar-Lipids, Inc., Alabaster, AL) (et anionisk amfipatisk lipid), 30 mm kolesterol (Avanti Lipids) og 10,8 mm trikaprylin. Den ikke blandbare første vandige komponenten og lipidkomponenten ble blandet ved 16000 rpm i en omniblander (OMNI International, Gainesville, VA) i 9 minutter. Resulterende vann-i-olje-emulsjon ble overført til en 50 ml blandebeholder inneholdende 25 ml av en kontinuerlig andre vandig komponent inneholdende 32 mg/ml glukose og 10 mm fri-base-lysin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Blandingen ble deretter blandet i 20 sekunder ved 4000 rpm i omniblander.

Resulterende vann-i-olje-i-vann dobbelemulsjon ble overført til 1 l Erlenmeyerflaske inneholdende 275 ml av den kontinuerlige andre vandige fasen (glukose, 32 mg/ml; fri-base lysin, 40 mm). Kloroform ble avdampet i 15 minutter under en konstant strøm (90l/min) av nitrogengass ved 37°C for å danne MVL partikler i suspensjonen. MVL partiklene ble isolert ved sentrifugering ved 200 x g i 10 minutter og deretter vasket tre ganger med 0,9% (w/v) løsning av NaCl. Hver batch ble lagret ved 2-8°C og anvendt i påfølgende studier i løpet av 48 timer.

## Eksempel 2: Utbytte av bupivakain fra forskjellige MVL formuleringer

Bupivakainprøver ble solubilisert ved tilsetting av et ekvimolart volum av en 1M løsning av den indikerte syren og deretter sakte tilsatt, med omrøring, ytterligere vann helt til 60 mg/ml eller en klar løsning ble oppnådd. pH ble deretter justert til omtrent 5. Endelig bupivakainkonsentrasjon ble bestemt ved HPLC mot en indre standard.

For hvert formuleringsforsøk inneholdt den første vandige faseløsningen bupivakainmotion med 60 mg bupivakain pr. ml eller grensen for oppløselighet av bupivakainmotionet, ved pH 5. Andre parametere for MVL fremstilling var som beskrevet ovenfor. Utbytte refererer til % bupivakain i motionsløsning innkapslet og isolert i det endelige MVL produktet. I studiet 2 inneholdt den første vandige fasen også 150 mm glukuronsyre. Resultatene er vist i tabell 1.

**Tabell 1. Utbytte av MVL-innkapslet bupivakain fra formuleringer inneholdende forskjellige syrer**

| Bupivakain (mg/ml) | inkludert syre | ytterligere syre  | utbytte (%)     |
|--------------------|----------------|-------------------|-----------------|
| <b>Studie 1</b>    |                |                   |                 |
| 60                 | fosfor         | -                 | 5,7             |
| 60                 | svovel         | -                 | (klumpet)       |
| 23                 | salpeter       | -                 | MVL ikke dannet |
| 40                 | saltsyre       | -                 | MVL ikke dannet |
| 26                 | glukuronsyre   | -                 | 34              |
| 60                 | vinsyre        | -                 | klumpet         |
| 41                 | eddiksyre      | -                 | MVL ikke dannet |
| 2,2                | perklorsyre    | -                 | MVL ikke dannet |
| <b>Studie 2</b>    |                |                   |                 |
| 60                 | fosfor         | 150 mm glukonsyre | 35              |
| 60                 | svovel         | 150 mm glukonsyre | 16              |
| 23                 | salpeter       | 150 mm glukonsyre | 45              |
| 40                 | saltsyre       | 150 mm glukonsyre | 16              |
| 26                 | glukuronsyre   | 150 mm glukonsyre | 48              |
| 60                 | vinsyre        | 150 mm glukonsyre | 20              |
| 41                 | eddiksyre      | 150 mm glukonsyre | 18              |
| 2,2                | perklorsyre    | 150 mm glukonsyre | MVL ikke dannet |
| 60                 | sitronsyre     | 150 mm glukonsyre | 13              |
| 60                 | eplesyre       | 150 mm glukonsyre | 19              |
| 60                 | ravsyre        | 150 mm glukonsyre | 20              |

5            Resultatene i tabell 1 demonstrerer klart at tilsetning av en polyhydroksyorganisk syre (i dette tilfellet glukuronsyre) i tillegg til en av et antall andre syrer, inkludert triprotiske mineralsyrer så som fosforsyre eller polyhydroksyorganiske syrer

så som glukuronsyre gir en fremragende synergistisk effekt. Denne overraskende oppdagelsen fører til høyere belastning og utbytte av MVL ifølge oppfinnelsen enn det som tidligere er blitt funnet.

5    **Eksempel 3: *In vivo* dyrestudier ved anvendelse av intrakutane injeksjoner**

Hannmarsvin med vekt på 800-1000 g (Harlan Sprague-Dawley, San Diego CA) ble anvendt i effektivitetsstudier. Hannmarsvin (Harlan Sprague-Dawley) med vekt på 400-600 g ble anvendt i farmakokinetikstudier. Dyrene ble huset, ett dyr pr. bur, i et temperatur-kontrollert miljø med alternerende 12-timer lange perioder med  
10 lys og mørke og med ubegrenset adgang til mat og vann. Før hver studie ble dyrene tilvendt miljøet i minst 7 dager. Hunn CD1 mus (Sprague-Dawley) med vekt 22-28 g ble anvendt for bestemmelse av maksimal tolerert dose (MTD). Alle dyrene ble opprettholdt i henhold til retningslinjene til Committee on Care and Use og Laboratory Animals of the Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council.

15        Formuleringer av MVL-innkapslet bupivakain og bupivakainhydroklorid fremstilt som beskrevet ovenfor ble fortynnet i normalt saltvann slik at et konstant volum på 1 ml inneholdt en dose i konsentrasjoner på 2,1%, 1,0% eller 0,5% (w/v) bupivakain. Konsentrasjonene ble bekreftet ved oppløsning av en 50 µm alikvote av MVL formuleringen i 1 ml isopropylalkohol etterfulgt av fortynning i vann og analyse ifølge  
20 en tidligere publisert HPLC metode som beskrevet (P. Le Guvello et al, J. Chromatography 622:284-290, 1993). HPLC analyser av MVL formuleringer viste at mindre enn 5% total bupivakain var tilstede i formuleringen som ikke-innkapslet bupivakain.

Infiltreringsanestesistudier ble utført i forsøksmarsvinene ved anvendelse av  
25 en modifisert intrakutan blomme pinne-prikkemodell som beskrevet (R.H. de Jong et al., Anesth. Analog 59:401-5, 1980). Dagen etter eksperimentet ble hår på ryggen til dyrene klippet. Hvert dyr mottok enten en dose av MVL-innkapslet bupivakain (konsentrasjoner på 0,5, 1,0 eller 2,1% (w/v) bupivakain) eller ikke-innkapslet bupivakain (konsentrasjoner på 0,25, 0,5, 0,75 eller 1,0% (w/v) bupivakain) som  
30 dannet en blomme. Grensene for blommen ble merket med merkeblekk. Reaksjonen ved pinneprikkning ved injeksjonssetet ble testet like før injeksjon (tid null) og 15

minutter, 3, 6, 12, 18, 24, 30 og 36 timer etter injeksjon av MVL-innkapslet bupivakain, og 0, 5, 15 minutter, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7 og 8 timer etter injeksjon av bupivakainhydroklorid. Pinneprikkingene ble påført først på et kontrollområde utenfor blemmen ved hvert tidspunkt. Etter observering av dyrets normale reaksjon overfor pinneprikkingen (vokaliseringsrespons) ble seks prikkinger påført inne i blemmen og antall prikkinger hvor marsvinet ikke reagerte ble registrert som ikke-responser. Hver prikking ble påført i et intervall på 3-5 sek. Alle dyrene reagerte med vokalisering overfor alle seks pinneprikkingene ved grunnlinjen.

Oppnådde dyredata indikerte hurtig begynnende anestesi etter en enkelt intrakutan dose av bupivakain innkapslet i MVL, etterfulgt av en forlenget varighet av sensorisk anestesi som varte opptil 28 timer avhengig av konsentrasjoner av bupivakain i MVL som ble administrert. Den hurtig begynnende anestesi skyldes delvis en lav, men signifikant fraksjon av ikke-innkapslet bupivakain (omtrent 5% av det totale) i batcher av MVL-innkapslet bupivakain anvendt i disse eksperimentene. Varighet av anestesi oppnådd ved anvendelse av disse formuleringene kan omfatte den verste post-operative perioden, de første 24 timene. En lengre anestesivarighet, kanskje 7 dager eller lengre, vil være mer egnet for kronisk smerte, så som cancer eller nevropatisk smerte.

#### **Eksempel 4: Dataanalyse av effektivitetstudier**

Kurver av anestesieffektivitet ble plottet som antall ikke-responser som en funksjon av 10. Areal under kurven (AUC) ble beregnet ifølge trapezoidal regel for siste datapunkt. Med hensyn til fig. 1A var MVL-innkapslede bupivakainkonsentrasjoner i vekt pr. volumprosent (w/v%) 2,1% (●), 1,0% (v) og 0,5% (σ). Med hensyn til fig. 1B var ikke-innkapslede bupivakainkonsentrasjoner i vekt pr. volumprosent 0,25% (V), 0,5% (σ), 0,75% ( ) og 1,0% (□). Hvert datapunkt representerer gjennomsnittet for 5-6dyr. Feilkolonnene representerer standard gjennomsnittlig avvik (SEM).

Vurdering av respons overfor pinneprikkinger viste at fullstendig lokal anestesi (ingen responstilstand) ble oppnådd i løpet av 15 minutter etter intrakutan administrering av enten MVL formulering av bupivakain (fig. 1A) eller av ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid (fig. 1B).

Fig. 2 viser varighet av anestesieffekt målt ved tid til halv maksimal respons ( $R_3$ ) for forskjellige doser av MVL formuleringen (fylte sirkler) og for ikke-innkapslet medikament (åpne sirkler). Hvert datapunkt representerer gjennomsnitt og standard gjennomsnittlig avvik (SEM) fra 5-6 dyr. Disse resultatene viser at varigheten av anestesieffekt var konsentrasjonsavhengig i begge tilfellene. MVL formuleringene inneholdende konsentrasjonen 0,5 og 1,0 vekt-% bupivakainfosfat ble forlenget henholdsvis 3,2 og 2,9 ganger, sammenlignet med sammenlignbare doser av bupivakainhydroklorid.

#### 10 **Eksempel 5: Bestemmelse av maksimal tolerert dose (MTD)**

Bestemmelse av maksimal tolerert dose (MTD) ble utført i mus ved anvendelse av en subkutan test kjent innenfor fagområdet (R. H. de Jong et al., *Anesthesiology* 54: 177-81, 1981). Grupper av tre mus ble gitt injeksjoner av enten 780 eller 980 mg pr. kg kroppsvekt av ovennevnte MVL formulering av bupivakain-sulfat som to oppdelte doser med 500  $\mu$ l hver (totalt volum 1,0 ml). Dosene ble administrert 40 inn i hver flanke. Kontroll med hver tre mus mottok en av testdosene som en enkeltdose på 10, 20, 30 eller 50 mg/kg kroppsvekt av ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid. MTD ble definert som den høyeste dosen hvorved ingen av dyrene opplevde systemisk toksisitet.

Disse studiene viste at ingen av musene som mottok fri bupivakainhydroklorid subkutan viste noen tegn på systemisk toksisitet ved doser på 10 og 20 mg/kg. Ved 30 og 50 mg/kg doser utviklet derimot to av tre, og tre av tre dyr toksisitet. Derimot førte subkutan administrering av MVL formulering av bupivakainsulfat i en dose på 780 mg/kg ingen tegn på systemisk toksisitet i noen av dyrene, mens tre av tre dyr hadde toksisitet ved en dose på 980 mg/kg. MTD for ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid ble vurdert til omtrent 20 mg/kg kroppsvekt over den til MVL-innkapslet bupivakainsulfat ble beregnet til omtrent 780 mg/kg kroppsvekt.

Den mest alvorlige toksisiteten som oppstår ved anvendelse av lokale bedøvelsesmidler er slag eller kardiovaskulær kolaps. I samsvar med serum-konsentrasjonen av lavere topp tilstede etter at administrering av MVL formuleringene av bupivakain var maksimalt tolerert dose for MVL-innkapslet bupivakain mange



ganger høyere enn for bupivakainhydroklorid. Disse dataene indikerer en øket systemisk trygghetsprofil for blandingene produsert ifølge fremgangsmåten i denne oppfinnelsen. Toksisitetsprofilene til aktive og inaktive ingredienser er veldefinerte og reduserer sannsynligheten for å oppdage uventet toksisitet.

5

### Eksempel 6: Farmakokinetikkstudier

In vivo farmakokinetikk til MVL formuleringen av bupivakain og fri bupivakainhydroklorid ble sammenlignet etter en enkelt 1 ml intrakutan dose av MVL formulering inneholdende 1,0% (w/v) bupivakain, eller en dose på 0,5% (w/v) av ikke-innkapslet bupivakainklorid til en gruppe marsvin. Lavere konsentrasjon ble valgt for bupivakainhydroklorid på grunn av at dyr på 400-600 g hadde ikke evne til å tolerere en 1,0% konsentrasjonsdose av ikke-innkapslet medikament. For dyrene som mottok fri bupivakainhydroklorid ble prøvene samlet etter 0 og 30 minutter, og 1, 3, 6 og 9 timer etter injeksjon, mens dyrene som mottok MVL formuleringer av bupivakain ble tatt  
10 prøve av 0, 6, 12, 18, 24, 48 og 72 timer etter injeksjon. Ved hvert tidspunkt ble tre eller flere dyr først bedøvd med halotan og deretter eksaguinert hjertepunktur. Serumprøver ble oppnådd ved sentrifugering av koagulert fullblod. Hud ble samlet rundt injeksjonssetet med marginer på 3 cm, sammen med et 2-3 mm lag av underliggende subkutan vev. Hud og serumprøver ble oppbevart i frossen tilstand ved  
15 -20°C frem til analysering.

Mengde totalt bupivakain gjenværende i injeksjonssetet ble oppnådd ved oppmaling av vev etter in toto homogenisering i vann ved anvendelse av en polytron homogenisator (Brinkman. Littau, Sveits). Bupivakain ble ekstrahert fra homogenatet og analysert ved HPLC ved anvendelse av en tidligere publisert metode (Le Guevello  
25 et al., J Chromatography 622:284-290, 1993). Bupivakainkonsentrasjon i serum ble bestemt ved ekstrahering etterfulgt av HPLC (Le Guevello et al., supra). Tetrakain ble tilført hver prøve før ekstrahering og ble anvendt som indre standard. Deteksjonsgrensen til analysen var 20 ng/ml.

Farmakokinetikkdata oppnådd fra prøvene ble analysert ved anvendelse av en  
30 "noncompartmental" modell WinNonlin software, Scientific Consulting Inc., Apex, NC).

Beregnete parametere var mengde medikament som var igjen i injeksjonssetet, arealet under "mengde vs tid" kurven (AUC) og halveringstid til medikament ( $t_{1/2}$ ). I tillegg til AUC og halveringstid ble topp konsentrasjon ( $C_{max}$ ) også rapportert for serumbupivakain farmakokinetikk.

- 5 Enveis variantsanalyse (ANOVA) ble anvendt for separat bestemmelse av doseavhengigheten for de andre medikamentformuleringene og administreringsvei (via MVL eller fri medikament) samt for sammenligning mellom formleringer. Student-Newman-Keuls tester ble anvendt på alle ANOVA analysene. Farmakokinetikkparametere oppnådd ifølge disse metodene er oppsummert i tabell 2
- 10 nedenfor.

**Tabell 2**

**Farmakokinetikkparametere etter enten en enkelt 1,0% depobupivakain eller**

15 **0,5% bupivakainhydroklorid intrakutaninjeksjon**

|                                                                  | MVL-innkapslet bupivakain | bupivakainhydroklorid |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Medikamentkonsentrasjon administrert                             | 1,0%                      | 0,5%                  |
| Topp mengde (mg) hud                                             | 11,6                      | 3,8                   |
| $t_{1/2}$ (t), hud                                               | 12,0                      | 1,3                   |
| AUC (mg*t), hud                                                  | 236                       | 2,9                   |
| $C_{max}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ), serum                            | 2,9                       | 6,5                   |
| $t_{1/2}$ (t), serum                                             | 20,5                      | 2,1                   |
| AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{t} \cdot \text{ml}^{-1}$ ), serum | 56,1                      | 21,2                  |
| $r^2$ , hud                                                      | 0,97                      | 0,85                  |
| $r^2$ , serum                                                    | 0,89                      | 0,93                  |

- "Medikamentkonsentrasjon administrert" er vektenheter bedøvelsesmiddel pr. volum MVL. "Toppmengde" viser maksimale mengde av indikert forbindelse i hud-
- 20 prøven. " $C_{max}$ " er maksimal konsentrasjon av indikert forbindelse i serum. " $t_{1/2}$ " er

halveringstid til medikament. "AUC areal" er arealet under "mengde vs tid" kurven. " $r^2$ " er kvadrat av korrelasjonskoeffisienten til prøven.

Disse resultatene viser at etter intrakutan administrering av MVL formuleringen reduseres den totale mengden av medikament i injeksjonssetevevet med en  
5 halveringstid på 12 timer sammenlignet med 1,3 timer for ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid. Topp serumkonsentrasjon av bupivakain etter en enkelt intrakutan dose på 1,0% MVL formulering ble redusert 2,2 ganger (4,4 ganger når korrigert for dose) sammenlignet med den etter 0,5% bupivakainhydroklorid. Likeledes ble terminal serumhalveringstid for 1,0% (w/v) MVL formuleringer 20,5 timer sammenlignet med  
10 2,1 timer for ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid ved konsentrasjon på 0,5% (w/v).

Lokalt injeksjonssete AUC for MVL formuleringer var 81 ganger (41 ganger når korrigert for dose) den i forhold til ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid, og serum AUC var 2:6 ganger (1,3 ganger når korrigert for doser) i forhold til bupivakainhydroklorid.

15 Fig. 3A og 3B viser resultater av farmakokinetikkstudiene. Fig. 3A viser mengde av enten MVL-innkapslet bupivakain i en konsentrasjon på 1,0% (w/v) av bupivakain (fylte sirkler) eller ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid ved en konsentrasjon på 0,5% (w/v) (åpne sirkler) som er igjen ved et injeksjonssete ved tidspunkter testet over en periode på 72 timer. Fig. 3B viser serumkonsentrasjon  
20 ( $\mu\text{g/ml}$ ) av bupivakain etter en enkelt intrakutan dose av MVL-innkapslet formulering ved 1,0% (w/v) bupivakain (fylte sirkler) eller ikke-innkapslet bupivakainhydroklorid ved en konsentrasjon på 0,5% (w/v) bupivakain (åpne sirkler). Hvert datapunkt representerer gjennomsnitt og gjennomsnittlig standardavvik (SEM) fra tre til seks dyr. Statistisk signifikansnivå på 0,05 ble anvendt i alle testene.

25 Farmakokinetikkdata oppnådd i eksemplene heri var i samsvar med en forlenget varighet av anestesieffekten. Varighet av anestesi var 2,9- til 3,2- ganger lengre for bupivakain innkapslet i MVL og halveringstiden ved injeksjonssetet var 9,2-ganger lengre sammenlignet med bupivakainhydroklorid. Toppserumkonsentrasjon ble redusert med 4,5 ganger (normalisert til ekvivalente doser) og  
30 terminal serumhalveringstid ble øket 9,8 ganger etter administrering av bupivakain innkapslet i MVL sammenlignet med bupivakainhydroklorid.

Som konklusjon kan det angis at en enkelt intrakutan dose av bupivakain innkapslet i MVL resulterte i en forlenget varighet av anestesi (opptil 28 timer) og en 9,2 ganger (ukorrigert for dose) økning av lokal injeksjonssetehalveringstid sammen-

5 lignet med bupivakainhydroklorid. Maksimal tolerert dose ble øket 39 ganger sammenlignet med bupivakainhydroklorid. Formuleringer ifølge oppfinnelsen kan følgelig anvendes for vedvarende infiltreringsanestesi uten behov for kontinuerlig infusjon og kan øke pasientens tilfredsstillelse.

Et antall utførelsesformer ifølge foreliggende oppfinnelse er blitt beskrevet.

10 Foregående beskrivelse skal illustrere oppfinnelsen.

## PATENTKRAV

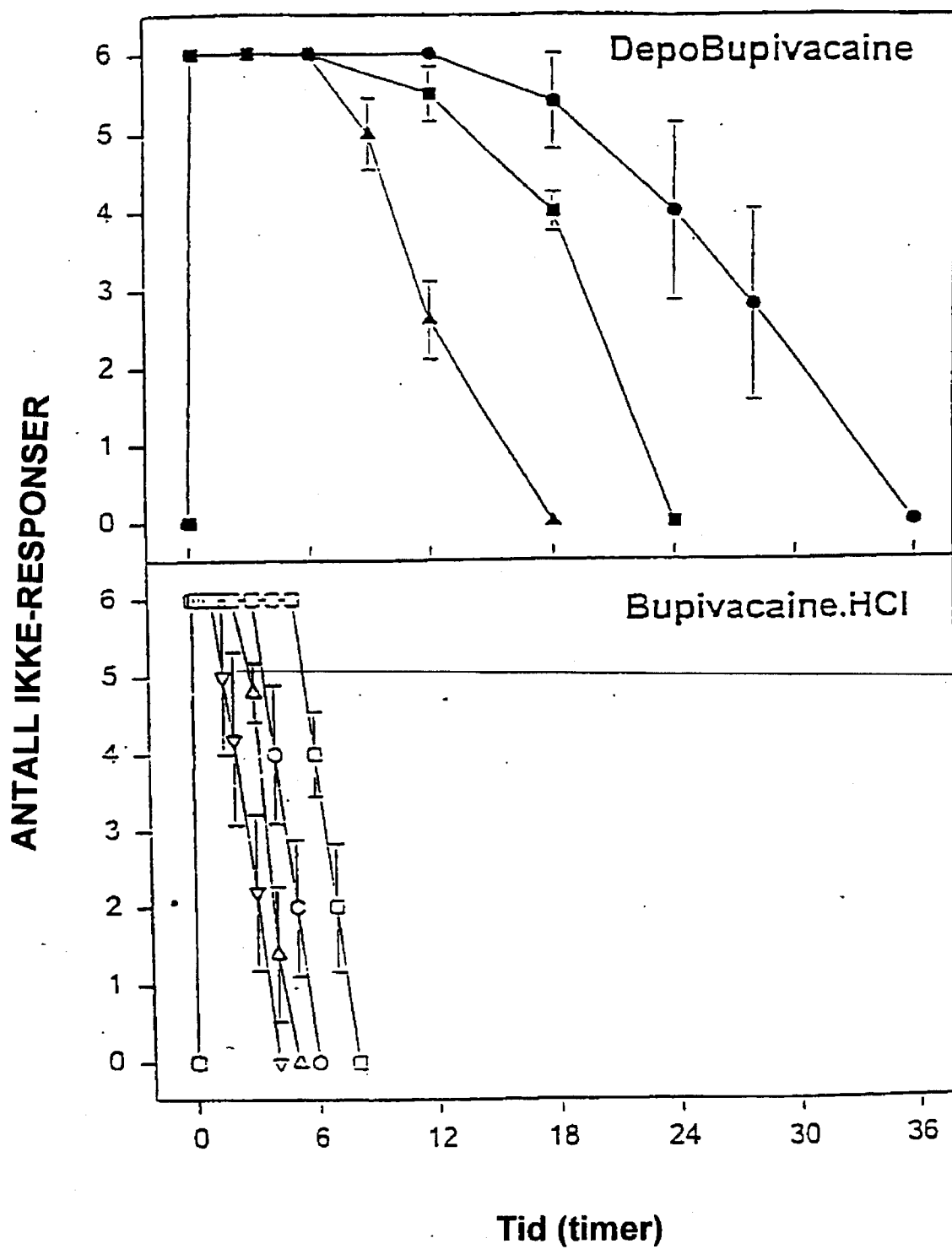
1. Farmasøytisk blanding, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter et multivesikulært liposom som omkapsler bupivakain, idet nevnte multivesikulære liposom omfatter bupivakain eller et salt derav; minst en syre valgt fra gruppen  
5 bestående av en diprotisk mineralsyre, en triprotisk mineralsyre og et polyhydroksykarboksylat eller kombinasjoner derav; en lipid komponent omfattende minst et amfipatisk lipid og minst et nøytralt lipid som mangler en hydrofil hodegruppe; og, eventuelt, et kolesterol og/eller et plantesterol.  
10
2. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t syren er en triprotisk mineralsyre.
3. Blanding ifølge krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den triprotiske  
15 mineralsyren er fosforsyre.
4. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte minst ene amfipatiske lipid er valgt fra gruppen bestående av dierukoylfosfatidylcholin og dipalmitoylfosfatidylglycerol.  
20
5. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte minst ene amfipatiske lipid omfatter dierukosylfosfatidylcholin.
6. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte minst ene  
25 amfipatiske lipid omfatter dipalmitoylfosfatidylglycerol.
7. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t ved at nevnte minst ene nøytrale lipid omfatter trikaprylin.
- 30 8. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t bupivakainet er et salt.

9. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det amfipatiske lipidet er tilveiebrakt blandet sammen med kolesterol.
10. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t syren er fosforsyre,  
5 nevnte minst ene amfipatiske lipid omfattende dierukoylfosfatidylcholin og/eller dipalmitoylfosfatidylglycerol, og nevnte minst ene lipid omfatter trikaprylin.
11. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t syren er fosforsyre; det amfipatiske lipidet er dierukoylfosfatidylcholin og dipalmitoylfosfatidylglycerol; og hvert  
10 nøytrale lipid er valgt fra gruppen bestående av triolein, tripalmitolein, trimyristolein, trilinolein, tributyrin, trikaproin, trikaprylin og trikaprin.
12. Blanding ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det nøytrale lipidet er trikaprylin.
- 15 13. Fremgangsmåte for fremstilling av en multivesikulær liposomal blanding inneholdende bupivakain, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter:
- a) fremstilling av en første vandige komponent omfattende en syre i tilstrekkelig mengde for å oppløse bupivakain eller et salt derav, idet nevnte syre er  
20 valgt fra gruppen bestående av polyhydroksykarboksylat, diprotisk mineralsyre, triprotisk mineralsyre og kombinasjoner derav;
  - b) fremstilling av en lipidkomponent omfattende minst et organisk løsningsmiddel, minst et amfipatisk lipid og minst et nøytralt lipid som mangler en hydrofil hodegruppe;
  - 25 c) blanding av nevnte første vandige komponent og nevnte lipidkomponent for å danne en vann-i-olje emulsjon, hvor minst en komponent omfatter bupivakain eller et salt derav;
  - d) blanding av nevnte vann-i-olje emulsjon med en andre vandige komponent for å danne løsningsmiddelsferuler; og
  - 30 e) fjerning av det organiske løsningsmiddelet fra løsningsmiddelsferulene for å danne multivesikulære liposomer.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den første vandige fasen videre omfatter saltsyre.
15. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte salt av  
5 nevnte bupivakain er valgt fra gruppen bestående av sulfater, fosfater og kombinasjoner derav.
16. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t polyhydroksykarboksylat er valgt fra gruppen bestående av glukuronat, glukonat,  
10 tartarat og kombinasjoner derav.
17. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte triprotiske mineralsyre er fosforsyre.
- 15 18. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte fosfatidylcholin er dierukoylfosfatidylcholin.
19. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte fosfatidylglycerol er dipalmitoylfosfatidylglycerol.  
20
20. Fremgangsmåte ifølge krav 13, k a r a k t e r i s e r t v e d a t nevnte nøytrale lipid er trikaprylin.
21. Anvendelse av den farmasøytiske blandingen ifølge krav 1, for fremstilling av  
25 et medikament for lokalbedøvnig av et individ ved injisering av medikamentet subkutant, intrakutant, ved infiltrering eller via en nerveblokk til et individ med behov for dette.

1/3

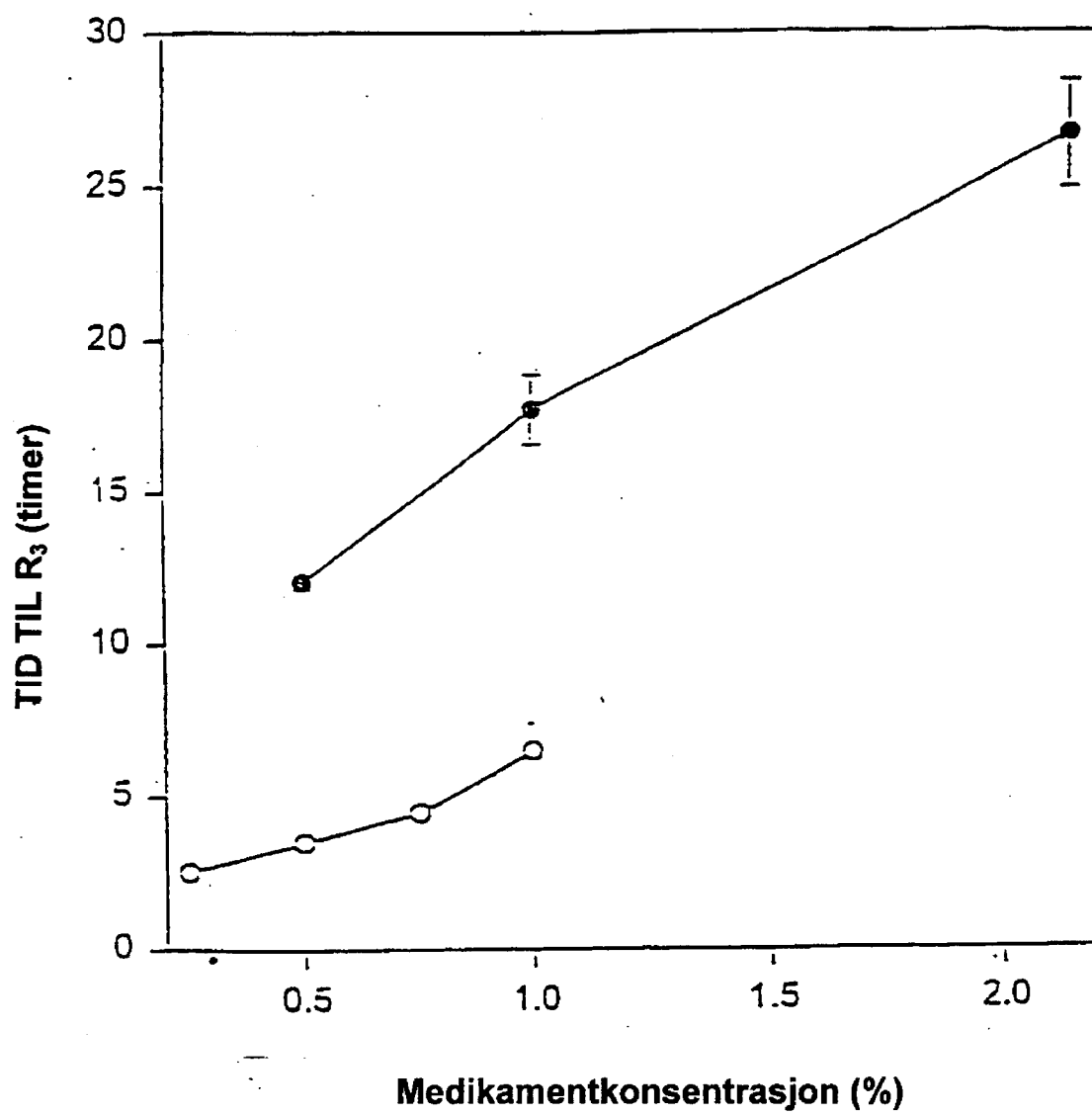
FIGUR 1A



FIGUR 1B



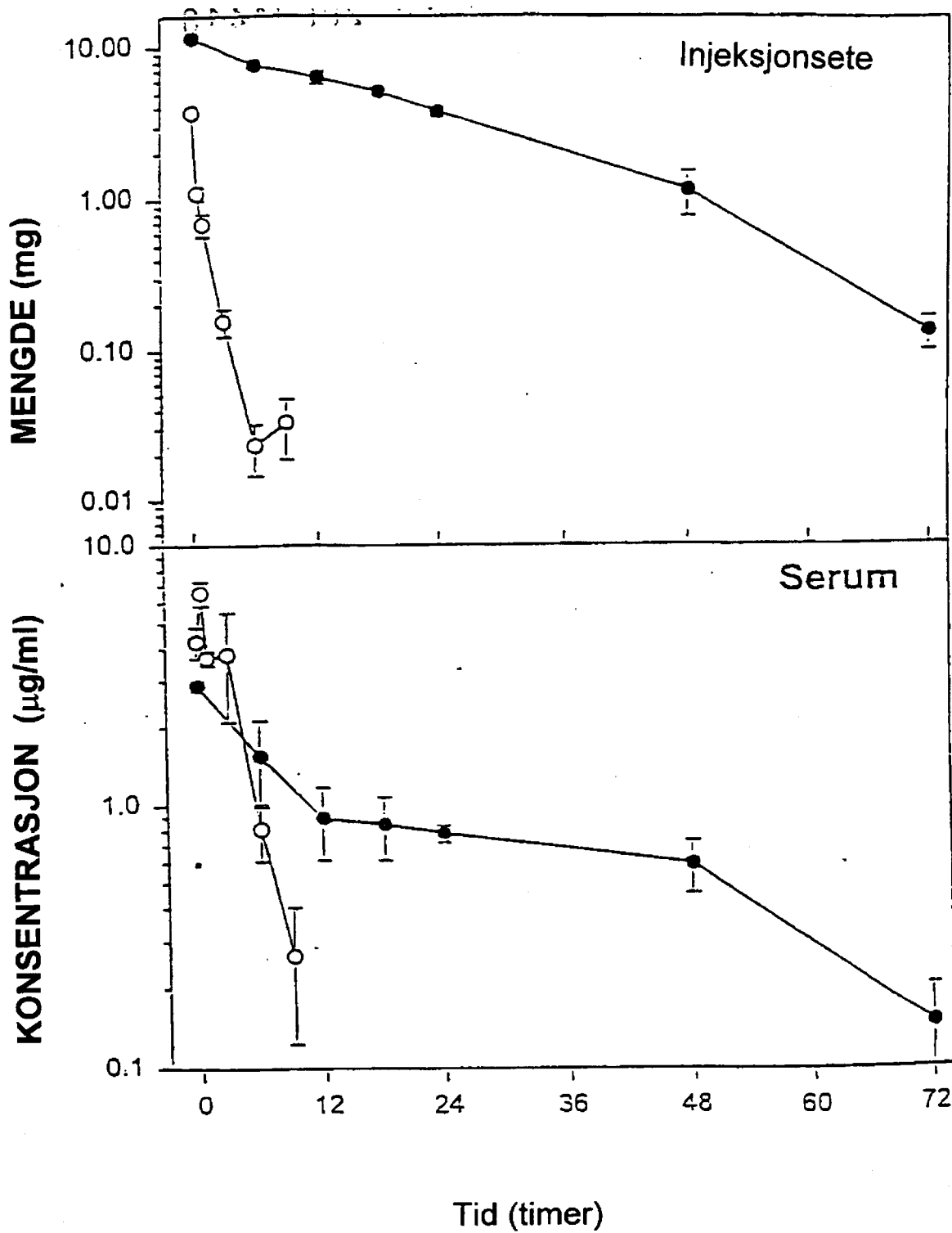
2/3



FIGUR 2

3/3

FIGUR 3A



FIGUR 3B