(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 892052 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 892052

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07J 9/00
C07J 31/00
C07J 41/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **28.04.1989**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **28.04.1989**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **31.10.1989**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

30.04.1988 DE 3814694

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Sandoz AG,** Lichtstrasse 35, 4056 Basel, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Azria, Moise,** Switzerland, SVEITSI, (CH)
2 • **Brich, Zdenek,** Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Papula Oy, Mechelininkatu 1 a, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Happoadditiosuoloja ja menetelmä niiden valmistamiseksi

Syradditionsalter och förfarande för framställning av desamma

AMIDOIDUN TAURIININ TAI GLYSIININ HAPPOADDITIOSUOLOJA, NIIDEN VALMISTUS JA KÄYTTÖ

Esillä olevan keksinnön kohteena on amidoidun tauriinin tai glysiinin happoadditiosuoloja, niiden valmistus ja käyttö.

Keksinnön tarkoituksena on tuoda esiin tauriini- tai glysiinianionin, jossa aminoryhmä on substituoitu 3α,7α,12α-trihydroksisteroidikarboksyylihapon asyyliryhmällä, ja kationin, joka on joko (a)alifaattinen amiini, jonka mahdolliset substituentit ovat muita kuin karboksyyliryhmiä, tai (b) emäksinen alfa-aminohappo, jossa on alkyleenisilta alfa-aminohapporyhmän ja muun aminoryhmän välillä, happoadditiosuoloja.

Myöhemmin näistä käytetään nimitystä keksinnön mukaiset happoadditiosuolat.

Edelleen keksinnön tarkoituksena on tuoda esiin menetelmä keksinnön mukaisten happoadditiosuolojen valmistamiseksi, jossa menetelmässä yhdistetään keskenään tauriini tai glysiini, joissa oleva aminoryhmä on substituoitu 3α,7α,12α-trihydroksisteroidikarboksyylihapon asyyliryhmällä, sekä joko (a) alifaattinen amiini, jonka mahdolliset substituentit ovat muita kuin karboksyyliryhmiä, tai (b) emäksinen alfa-aminohappo, jossa on alkyleenisilta alfa-aminohapporyhmän ja muun aminoryhmän välillä.

Alifaattisessa amiinissa voi olla esim. 1 - 10 hiiliatomia. Alifaattisessa amiinissa voi olla yksi tai useampia substituenttejä, mutta se on edullisesti substituoimaton.

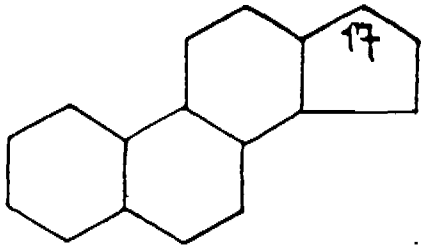
Kationi ii) on johdettu edullisesti α-aminohaposta. Emäksisyys voidaan aikaansaada ylimääräisellä aminoryhmällä.

Emäksinen aminoryhmä voidaan alkyloida, esim. metyyli- tai etyyliryhmillä, jolloin aminoryhmä esiintyy sekundaarisena tai tertiäärisenä aminoryhmänä. Hiiliatomin, johon karboksyyliryhmä ja α-aminoryhmä on liit-

tynyt, sekä toisen aminoryhmän välinen alkyleenisilta sisältää edullisesti 3 - 4 hiiliatomia muodostaen esim. lysiinin.

Keksintö tuo erityisesti esiin tauriinin tai glysiinin ja 3α,7α,12α-trihydroksisteroidin rakenteen omaavan karboksyylihappotähteen amidin sekä emäksisen aminohapon välisiä happoadditiosuoloja.

Tauriinin tai glysiinin ja 3α,7α,12α-trihydroksisteroidiperusrakenteen omaavan karboksyylihappotähteen amidit ovat yleisesti tunnettuja esim. teoksesta Kirk-Othmers Encyclopedia of Chemical Technology, toinen painos Vol.3, ss.480 - 488, erityisesti s. 481, tai eurooppalaisesta patenttihakemuksesta nro 128,831. Niiden molekyylissä on steroidin perusrakenne, jolla on kaava I,



I

jossa asemassa 17 on esim. tyydyttynyt, haaroittunut C_4-alkyyliyksikkö tai yksi tai kaksi tyydyttämätöntä sidosta omaava, haaroittunut C_7-alkyyliyksikkö, ja jossa on substituenttina karbonyyliryhmä -C(=O)-, joka on liittynyt tauriinin ($-NH-CH_2-CH_2-SO_3H$) tai glysiinin ($-NH-CH_2-COOH$) kanssa amidiksi. Perusrungossa on muissa asemissa muita substituentteja, erityisesti hydroksyyli- ja metyyliryhmiä.

Tauriini- tai glysiiniamidit on edullisesti taurokoli- tai glykokolihappo.

Keksinnön mukainen menetelmä voidaan toteuttaa esim. suolan muodostukselle tunnetulla tavalla.

Tauriinin tai glysiinin ja/tai amiinin reaktiivisia johdannaisia voidaan käyttää haluttaessa.

Reaktiota voidaan pitää neutralointina. Keksinnön mukaiset happoadditiosuolat ovat edullisesti hieman

emäksisiä.

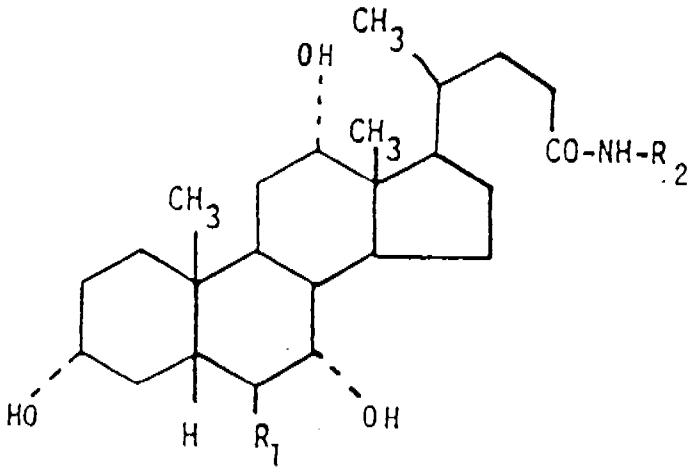
Happoadditiosuolat valmistetaan edullisesti yhdistämällä tauriini tai glysiini, joiden aminoryhmä on amidoitu karboksyylihappotähteellä, sekä alifaattinen amiini tai emäksinen aminohappo, joka sisältää alfa-aminokarboksyylihapporyhmään alkyleenisillan välityksellä liittyneen emäksisen aminoryhmän, keskenään liuottimessa, edullisesti polaarisessa liuottimessa, esim. vedessä, ja tämän jälkeen ottamalla talteen muodostunut suola.

Talteenotto suoritetaan edullisesti kylmäkuivaamalla.

Tekniikan tasosta tunnetaan yksi happoadditiosuola, joka on muodostettu emäksisestä aminohaposta ja karboksyylihapolla konjugoidusta tauriinista. Se on mono[2-[[(3-alfa,5-beta,7-alfa,12-alfa)-3,7,12-trihydroksi-24-oksokolan-24-yyli]amino]-etaanisulfonaatista eli taurokolihaposta ja 2-arginiinista muodostettu suola ja se on kuvattu japanilaisessa patenttihakemuksessa nro 84141510, jossa se on kosmeettisissa valmisteissa tai elintarvikkeissa käytettävän seoksen komponenttina. Julkaisussa ei ole minkäänlaista viittausta sen käytöstä lääkeaineena.

Keksintö tuo erityisesti esiin edellä kuvatun tauriinin tai glysiinin ja karboksyylihapon amidin sekä emäksen aminohapon, lysiinin, $H_2N-(CH_2)_4-CH(NH_2)-COOH$, happoadditiosuoloja. Lysiini voi D- tai L-muodossa tai molempien muotojen seoksena, esim. rasemaattina.

Lysiinin kanssa muodostetut edulliset happoadditiosuolat ovat tauriinilla tai glysiinilla konjugoitujen karboksyylihappojen kanssa muodostetut suolat, jolloin anioneilla on kaava II,



II

jossa R_1 on H tai OH; R_2 on $-CH_2-COO^-$ tai $-CH_2-CH_2-SO_3^-$, ja kationilla on kaava



Kationisessa suolaosassa COOH- ja NH_2- ryhmät käyttäytyvät kuten aminohappojen tapauksessa: zwitterionimuodostus on mahdollista.

Edullisesti R_1 = H, ja R_2 = $-CH_2-CH_2-SO_3^-$.

Happoadditiosuoloissa lysiini voi olla D- tai L-muodossa tai molempien seoksena, esim. rasemaattina.

Hapoista, jotka ovat osa happoadditiosuoloja, voidaan käyttää nimitystä taurokolihapot tai glykokolihapot, ja ne saadaan esim. luonnon ihmis- tai eläinlähteistä tai ne voidaan valmistaa synteettisesti.

Esimerkkinä keksinnön mukaisesta yhdisteestä voidaan mainita taurokolihapon ja lysiinin happoadditiosuola, jonka kemiallinen nimi on taurokolihappo-lysinaatti.

Saksalaisessa patenttihakemusjjulkaisussa DE 3623 747 A1 on kuvattu 3α,12α-dihydroksitauro- tai

glykokolaanihappoja ja niiden alkalisuoloja, joiden asemassa 7 on ß-hydroksi- tai erityisesti 7ß-4'aminobentsamidoryhmä. Yhdisteitä käytetään, niiden erityisrakenteesta johtuen, biologisista membraaneista saatujen proteiinien selektiiviseen eristykseen ja karakterisointiin.

Edelleen esillä olevan keksinnön tarkoituksena on tuoda esiin farmaseuttinen ainekokoomus, joka sisältää ainakin yhtä farmakologisesti aktiivista ainetta sekä alifaattisen amiinin tai emäksisen α-aminohapon happoadditiosuolaa. Näistä käytetään myöhemmin nimitystä keksinnön mukaiset farmaseuttiset ainekokoomukset.

Olemme nyt havainneet, että tällaiset happoadditiosuolat ovat yllättäen erityisen käyttökelpoisia farmaseuttisten ainekokoomusten apuaineina farmaseuttisten ainekokoomusten sisältäessä aktiivisina aineina esim. peptidi- tai proteiinisia lääkeyhdisteitä, ja niillä on resorptiota edistävää vaikutusta tällaisiin aktiivisiin aineisiin nähden.

Edelleen edellä olevan keksinnön tarkoituksena on tuoda esiin tällainen happoadditiosuola, esim. keksinnön mukainen happoadditiosuola, käytettäväksi apuaineena farmaseuttisissa ainekokoomuksissa, jotka sisältävät ainakin yhtä aktiivista ainetta.

Edelleen esillä olevan keksinnön tarkoituksena on tuoda esiin menetelmä farmaseuttisen ainekokoomuksen valmistamiseksi, jossa menetelmässä valmistetaan tauriini- tai glysiinianionin, jossa aminoryhmä on substitioitu 3α,7α,12α-trihydroksisteroidikarboksyylihapon asyyliryhmällä, sekä joko (a) alifaattisen amiini-, jonka mahdolliset substituentit ovat muita kuin karboksyyliryhmiä, tai (b) emäksisen α-aminohappokationin välinen happoadditiosuola.

Farmaseuttiset ainekokoomukset voidaan valmistaa konventionaaliseen tapaan käyttäen esim. oraaliseen, rektaaliseen tai nasaaliseen antoon tarkoitettaviin ainekokoomuksiin haluttuja sopivia apuaineita.

Tällaiset ainekokoomukset valmistetaan sopivasti konventionaalisin menetelmin konventionaalisiksi muodoiksi, esim. kapseleiksi, tableteiksi, peräpuikoiksi, sirotejauheeksi, siirapeiksi, eliksiireiksi, suspensioiksi tai liuoksiksi esim. enteraalista antoa varten. Sopivia farmaseuttisia laimennusaineita tai kantajia on kuvattu myöhemmin esimerkkiosassa. Näitä voivat olla esim. vesi, kovetetut öljyt ja vahat tai laktoosi, kuin myös sopivat säilöntäaineet, suspendoivat aineet, kostutusaineet, granuloivat ja hajoittavat aineet, sideaineet, liukuaineet, eleganttien ja miellyttävien farmaseuttisten valmisteiden aikaansaamiseksi.

Inhalaatiohoitoa varten tarkoitetut ainekokoomukset voidaan valmistaa konventionaaliseen tapaan, esim. sumutteiden, haihduttimien (vaporizers) ja aerosolien muotoon. Yksikköannokset voidaan aikaansaada mittaventtiilijärjestelmän avulla. Keksinnön mukaiset farmaseuttiset ainekokoomukset valmistetaan edullisesti nasaalista antoa varten. Natriumkloridin on havaittu olevan erityisen mielenkiintoinen apuaine vesipitoisten nasaalisten ainekokoomusten tapauksessa, jolloin sitä on ainekokoomuksessa esim. 1 - 15 mg/ml.

Ainekokoomukset ovat edullisesti yksikköannosmuodossa tai voidaan jakaa yksikköannoksiksi, joista jokainen sisältää esim. n. 0.1 - n. 100 mg happoadditiosuolaa, täsmällisen määrän riippuessa esim. aktiivisesta aineesta ja antotavasta. Keksinnön mukaisen happoadditiosuolan ja aktiivisen aineen välinen painosuhde on edullisesti esim. n. 1:1 - n. 5000:1.

Esillä oleva keksintö tuo esiin myös happoadditiosuoloja, joissa anionisella suolaosalla on kaava II, ja kationinen suolaosa on jokin muu emäksinen aminohappo, näiden happoadditiosuolojen ollessa apuaineina peptidi- tai proteiinilääkeyhdisteitä sisältävissä farmaseuttisissa ainekokoomuksissa.

Emäksiset aminohapot voivat olla D- tai L-muodossa tai ne voivat olla molempien optisesti aktii-

visten muotojen seoksena, esim. rasemaattina.

Lysiinin happoadditiosuolojen lisäksi myös arginiinin, ornitiinin ja delta-oksilysiinin happoadditiosuolat ovat käyttökelpoisia apuaineina. Kuitenkin lysiinin happoadditiosuolat ovat edullisempia.

Farmakologisesti aktiivisen aineen täsmällinen annos voidaan varmistaa konventionaalisilla eläin tai kliinisillä kokeilla. Esim. annos voidaan saada selville vertailevilla biosaatavuuskokeilla, joissa vertailu suoritetaan muihin, tunnetun terapeuttisen vaikutuksen omaaviin formulaatioihin nähden, annoksen ollessa valittu sellaiseksi, että se tuottaa vakiotilassa vertailukelpoisia lääkkeen plasmatasoja terapeuttisesti vaikuttaviin tasoihin nähden. Aktiivisen aineen annosmäärä on tavallisesti n. 1/2 - 1/10 samaa antomuotoa olevan vertailuformulaation sisältämästä aktiivisen aineen annosmäärästä vertailuformulaation ollessa reserptiopromoottoria sisältämätön. Indikoidut peptidiannokset ovat n. 2 mikrog - n. 20 mg.

Keksinnön mukaisia happoadditiosuoloja ja suoloja, joita käytetään keksinnön mukaisessa farmaseuttisessa ainekokoomuksessa, voidaan käyttää yhdistelmänä myös muiden kuin korkeamman molekyylipainon omaavien veteen liukenemattomien peptidilääkeyhdisteiden, esim. sandimmun® (syklosporiini A), kanssa. Niitä käytetään edullisesti yhdessä alemman molekyylipainon omaavien peptidilääkeyhdisteiden, esim. somatostatiinien, kuten SMS, tai erityisesti kalsitoniinien, kuten lohen kalsitoniinin, kanssa.

Ne ovat käyttökelpoisia esim. annoksina 0.1-10, edullisesti 0.7 - 1.5 p-%, farmaseuttisten ainekokoomusten apuaineina.

Molekyylipainoltaan 1,000 - 150,000 olevia peptidi- tai proteiinilääkeyhdisteitä voidaan edullisesti käyttää yhdessä keksinnön mukaisten happoadditiosuolojen kanssa.

Käyttökelpoisia fysiologisesti aktiivisia

peptidejä ovat esim. peptidihormonit, kuten insuliini, angiotensiini, vasopressiini, desmopressiini, felypressiini, protireliini, luteinisoivaa hormonia vapauttava hormoni, kortikotropiini, prolaktiini, somatropiini, tyrotropiini, luteinisoiva hormoni, syklosporiini A (sandimmun®), kalsitoniini, somatostatiini, kallikreiini, paratyriini, glukagoni, oksitoksiini, gastriini, sekretiini, seerumin gonadotropiini, kasvuhormoni, erytropoietiini, angiotensiini, urogastroni ja reniini; käyttökelpoisia fysiologisesti aktiivisia proteiineja ovat interferonit, interleukiini, transferriini, histaglobuliini, makrokortiini ja veren koagulointitekijä VIII; entsyymiproteiinit, kuten lysotsymi ja urokinaasi; rokotteet, kuten asellulaarinen ja sellulaarinen hinkuyskärokote, kurkkumätärokote, jäykkäkouristusrokote, influenssarokote; ja toksoidit kuten kurkkumätätoksoidi, jäykkäkouristustoksoidi ja lymfosytoosia edistävän tekijän toksoidit. Edellä mainituista polypeptideistä ovat edullisimpia peptidihormonit, fysiologisesti aktiiviset proteiinit ja rokotteet. Peptidihormonit ovat näistä erityisen edullisia. Edelleen peptidihormoneista ovat erityisen edullisia kalsitoniinit, somatostatiinit, insuliini, luteinisoivaa hormonia vapauttava hormoni, desmopressiini, vasopressiini ja oksitosiini; kalsitoniinien ja somatostatiinien ollessa edullisimpia.

"Somatostatiinit"-termi sisältää myös sen analogit tai johdannaiset. Johdannaisilla ja analogeilla tarkoitetaan suoraketjuisia, sillan omaavia tai syklisiä polypeptidejä, joissa yksi tai useampi aminohappoyksikkö on jätetty pois ja/tai korvattu yhdellä tai useammalla muulla radikaalilla (radikaaleilla) ja/tai joissa yksi tai useampi funktionaalinen ryhmä on korvattu yhdellä tai useammalla muulla funktionaalisella ryhmällä ja/tai yksi tai useampi ryhmä on korvattu yhdellä tai useammalla muulla isosteerisella ryhmällä. Yleisesti ottaen termi kattaa kaikki biologisesti aktiivisen peptidin modifioidut johdannaiset, jotka omaavat kvalitatiivises-

ti samanlaisen vaikutuksen kuin modifioimaton samatostatiinipeptidi.

Edullisia somatostatiineja ovat:

a) (D)Phe-Cys-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-oli
(geneerinen nimi on oktreotidi)

b) (D)Phe-Cys-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Cys-ThrNH_2

c) (D)Phe-Cys-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Cys-TrpNH_2

d) (D)Trp-Cys-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Cys-ThrNH_2

e) (D)Phe-Cys-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Cys-ThrNH_2

f) 3-(2-(naftyyli)-(D)Ala-Cys-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Cys-ThrNH_2

g) (D)Phe-Cys-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Cys-ß-Nal-NH_2

h) 3-(2-naftyyli)-Ala-Cys-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Cys-ß-Nal-NH_2

i) (D)Phe-Cys-ß-Nal-(D)Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2

Muita edullisisia somatostatiineja ovat:

H-Cys-Phe-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-OH

(kts. Vale et al., Metabolism, 27, Supp.1, 139 (1978).

Asn-Phe-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba

(kts. EP-patenttijulkaisu No. 1295 ja hakemusjulkaisu No. 78 100 994.9).

MeAla-Tyr-(D)Trp-Lys-Val-Phe

(kts. Verber et al., Life Sciences, 34, 1371-1378 (1984) ja EP-patenttihakemusjulkaisu No. 82 106 205.6 (julkaistu No. 70 021) tunnetaan myös nimellä syklo (N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe).

NMePhe-His-(D)Trp-Lys-Val-Ala

Kts. R.F.Nutt et al.,. Klin.Wochenschr. (1986) 64 (Suppl.VII)

H-Cys-His-His-Phe-Phe-(D)Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH
(kts. EP-A-200,188).

Edellä mainittujen julkaisujen sisältö sekä spesifiset yhdisteet on liitetty tämän hakemuksen viitteeksi.

Analogi-termi sisältää myös vastaavat johdannaiset, joihin on liittynyt sokeritähde.

Somatostatiinien sisältäessä sokeritähteen se on edullisesti liittynyt N-terminaaliseen aminoryhmään ja/tai ainakin yhteen peptidisivuketjussa olevaan aminoryhmään, edullisemmin N-terminaaliseen aminoryhmään. Tällaisia yhdisteitä ja niiden valmistus on esitetty

esim. WO/02756.

Erityisen edullinen tunnettu yhdistetty N$^{\alpha}$-[α-glukosyyli-(1-4-deoksifruktosyyli]-DPhe-Cys-Phe-DTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-oli.

Somatostatiinit on tarkoitettu käytettäväksi sellaisten häiriötilojen hoitoon, joiden etiologiaan kuuluu tai liittyy GH-liikaeritys, esim. akromegalian hoitoon, kuin myös nuoruusiän diabeteksen hoitoon, sekä käytettäväksi gastro-intestinaalihäiriöiden hoitoon, esim. peptisen haavauman, enterokutaanisen ja pankreatikokutaanisen fistulan, ärsyyntyneen suolisyndrooman, mahanpoiston jälkioireiston, vetisen ripulisyndrooman, akuutin haimatulehduksen ja gastrointestinaalista hormonia erittävien kasvaimien (esim. vipomas, glukagonomas, insulinomas, karsinoidi ja vastaavat) hoitoon, kuin myös gastro-intestinaalisen verenvuodon hoitoon.

Toinen edullinen aktiivisten aineiden luokka kalsitoniinit.

Kalsitoniinit tunnetaan farmakologisesti aktiivisten, pitkäketjuisten polypeptidien luokkana ja niillä on erilaisia hyvin dokumentoituja farmakologisia vaikutuksia. Tähän luokkaan ei sisälly ainoastaan luonnossa esiintyvät, uuttamalla saatavat kalsitoniinit, kuten ihmisen, lohen, sian, kanan ja lehmän kalsitoniini, mutta siihen kuuluu myös useat synteettiset valmistetut johdannaiset ja analogit, kuten sellaiset johdannaiset, joissa yksi tai useampi aminohappotähde tai yksi tai useampi aminohapposekvenssi, joka esiintyy luonnontuotteisssa, on poistettu, korvattu, käännetty tai muulla tavoin johdettu tai joiden on N- tai C-terminaalitähdettä on modifioitu. Useat kalsitoniinit, kuten ihmisen ja lohen kalsitoniini sekä ankeriaan kalsitoniini, esim. Elcatonin, ovat kaupallisesti saatavilla ja yleisesti käytettyjä esim. Paget-taudin, hyperkalsemian ja osteoporoosin hoidossa.

Kuten yleensäkin peptidien tapauksessa, niin myös kalsitoniinin tapauksessa on ollut vaikeuksia

kehittää sopivia ja vaikuttavia kalsitoniinin antomuotoja. Peptidirakenteesta johtuen kalsitoniinit hajoavat helposti suolistonesteissä oraalisen annon jälkeen. Lisäksi ne imeytyvät huonosti kehoon joko mahan tai suoliston tai suun, nenän, tai peräsuolen limakalvojen läpi.

Kalan kalsitoniinin, esim. lohen kalsitoniinin, nasaalinen anto sekä oraalinen inhalaatioainekokoomus on esitetty UK-patenttijulkaisussa 1,354,525, s. 3, 1.9 - 12, mutta nasaaliseen käyttöön tarkoitetusta mahdollisesta ainekokoomuksesta ei ole esitetty minkäänlaisia täsmällisiä yksityiskohtia. Resorptiopromoottorin käyttöä ei julkaisussa näytä esitetyn.

Olemme nyt havainneet, että käytettäessä keksinnön mukaisia farmaseuttisia ainekokoomuksia aktiivisten aineiden, esim. peptidien, pääsy limakalvojen läpi, ja siten biosaatavuus, on verrattavissa vastaaviin tuloksiin, jotka saavutetaan käytettäessä muita resorptiopromoottoreita, kuten natriumtaurokolaattia, ja mikäli ainekokoomus sisältää natriumkloridia, niin vastaavat tulokset voivat jopa parantua. Lisäksi keksinnön mukaisten uusien resorptiopromoottoreiden etuna on, että niillä on parempi paikallinen siedettävyys, kun niitä sisältäviä farmaseuttisia ainekokoomuksia saatetaan nenän limakalvoille. Ne eivät ilmeisesti aiheuta limakalvojen ärsytystä eikä voida havaita värekarvaliikefrekvenssin hidastumista.

Siten esillä oleva keksintö tuo esiin myös tällaisia happoadditiosuoloja, jotka sisältyvät peptidilääkeyhdisteiden transmukoosikuljetusta varten, edullisesti nasaalista antoa varten, sovitettuihin farmaseuttisiin ainekokoomuksiin. Edelleen keksintö tuo esiin tällaisia suoloja sisältäviä farmaseuttisia ainekokoomuksia.

Farmaseuttiset ainekokoomukset ovat, nasaalisen annon tapauksissa, edullisesti jauhemaisessa tai nestemäisessä muodossa ja ne ovat tällöin erityisesti saatet-

tavissa sumuttimesta. Sopivat sumuttimet ovat yleisesti tunnetuja.

Aktiivisen aineen, kuten peptidilääkkeen, joka on tarkoitettu annettavaksi keksinnön mukaisena ainekoostumuksena, annosmäärä riippuu luonnollisesti aktiivisen aineen luonteesta, hoidettavan taudin tyypistä, halutusta annostiheydestä ja halutusta vaikutustyypistä.

Kuten seuraavassa esimerkissä 4 on mainittu, niin kalsitoniinien, erityisesti lohen kalsitoniinin, biosaatavuus (määritetty mittaamalla plasmapitoisuus) esillä olevan keksinnön mukaisten ohjeiden mukaisen nasaalisen annon jälkeen on korkea ja tavallisesti yli 400 % korkeampi kuin arvot, jotka on saatu annettaessa kalsitoniinia ilman resorptiopromoottoria, tai 67 % korkeampi kuin arvo, joka on mitattu parhaan tunnetun, mutta kuitenkin huonosti siedetyn, resorptiopromoottorin tapauksessa, jolloin biosaatavuudeksi on saatu 600 %. Näin ollen keksinnön mukaisesti annettava annos on n. aina neljä kertaa pienempi kuin annos, joka tarvitaan hoitovaikutuksen saamiseksi ilman resorptiopromoottoria.

Tähän mennessä on annettu n. 10 - 400 I.U. suuruisia annoksia kalsitoniineja kerran päivässä-kolme kertaa viikossa nasaalisesti yhdessä tunnetun resorptiopromoottorin kanssa.

Keksinnön mukaisen nasaalisen annon tapauksessa ovat n. 10 - n. 400 I.U., edullisesti n. 50 - n. 200 I.U., suuruiset annokset tarpeellisia annettaessa niitä kerran päivässä - n. kolme kertaa viikossa. Sopivasti annokset annetaan yhdellä kertaa. Vaihtoehtoisesti annokset voidaan jakaa annettaviksi kaksi - neljä kertaa päivässä, jolloin jokainen antomäärä on n. 2.5 - 200, edullisesti n. 12.5 - n. 100 I.U., suuruinen.

Nasaaliseen antoon tarkoitetun ainekokoomuksen kokonaisnestemuototilavuus on edullisesti n. 0.01 - 0.15 ml, ensisijaisesti n. 0.1 ml, kuten 0.09 ml. Tällöin keksinnön mukaiset ainekokoomukset, annostilavuutena

0.1 ml, sisältävät edullisesti 10 - n. 400, edullisemmin n. 50 - n. 400 U.I. kalsitoniinia, esim. lohen kalsitoniinia, per 0.1 ml.

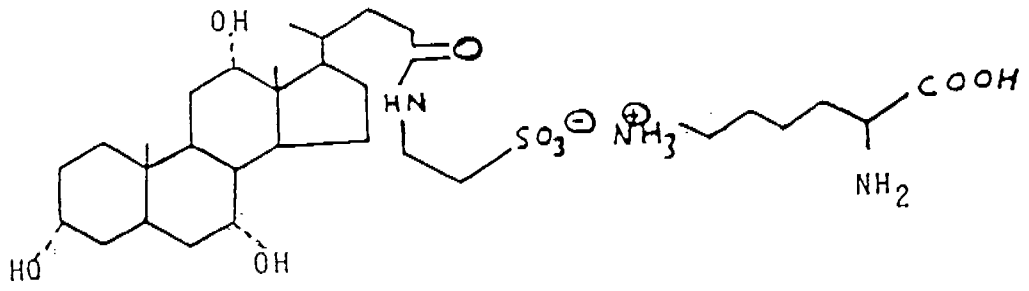
Annettaessa keksinnön mukaisia ainekokoomuksia 2 - 4 kertaa päivässä niiden tulisi edullisesti sisältää n. 2.5 - n. 200, edullisemmin n. 2.5 - n. 200, I.U. per 0.1 ml.

Esillä oleva keksintö tuo erityisesti esiin keksinnön mukaisen farmaseuttisen ainekokoomuksen, joka on tarkoitettu käytettäväksi Paget-taudin, hyperkalsemian tai osteoporoosin hoidossa ja joka sisältää lohen kalsitoniinia.

Keksintö tuo myös esiin menetelmän aktiivisen aineen antamiseksi kohteelle, jossa menetelmässä mainitulle kohteelle annetaan vaikuttava määrä keksinnön mukaista farmaseuttista ainekokoomusta.

Edelleen esillä oleva keksintö tuo esiin keksinnön mukaisen happoadditiosuolan käytön farmaseuttisen ainekokoomuksen valmistuksessa.

Esimerkki 1:
Taurokolihappo-lysinaattisuolan valmistus:
Suolan rakennekaava



1. Taurokolihapon valmistus

10 g vahvasti hapanta kationinvaihtohartsia

suspendoitiin 50 ml demineralisoituun veteen kromatografiapylväässä (pituus 30 cm, halkaisija 1 cm). Hartsia huuhdeltiin vedellä, kunnes pH oli noussut arvosta 1.0 arvoon 6.0.

3 g (0.0056 Mol) taurokolihapon natriumsuolaa liuotettiin 50 ml demineralisoituun veteen ja seos kaadettiin kromatografiapylvääseen. Saatiin taurokolihappoliuosta. Tämän jälkeen pylvästä pestiin 50 ml demineralisoidulla vedellä, kunnes pH oli 6 (neutraali) ja kirkas väritön taurokolihappoliuos saatiin 100 ml veteen pH:n ollessa 1.0.

2. Taurokolihappo-lysinaattisuolan valmistus

0.85 g (0.0058 Mol) L (-) lysiiniä liuotettiin 100 ml demineralisoituun veteen.

Liuoksen pH oli 13 - 14. L(-)-lysiiniliuos lisättiin sekoittaen taurokolihappoliuokseen, jolloin muodostui suola.

Titrauksella voitiin osoittaa, että kaikki happo oli mennyt suolaksi.

Suolaliuos lyofilisoitiin yön yli saaden valkoista jauhetta. Sulamispiste oli 80° C (sintrautuu). Lämpötilassa 117° C tuote hajoaa.

0.1 N vesiliuoksen pH-arvo oli 8.4. Lysiini neutraloi taurokolihapon huomattavasti vahvemmin kuin NaOH. (0.1 N natriumtaurokolaatin vesiliuoksen pH on 6.1).

^{1}H-NMR (D_2O) delta (ppm): 4,04 (m,1H,CH-OH); 3,88 (m,1H,CH-OH); 3,69 (A,J = 7 Hz, 1H, lysiinin CH-alfa); 3,57 (A, J = 7 Hz, 2H, CH_2-NHCO); 3,49 (m, 1H, CH-OH); 3,07 (t,J = 7 Hz, 2H CH_2-SO_3-); 3,01 (t,J = 7 Hz, 2H, lysiinin CH_2-epsilon); 2,4-1,05 (m,28H, ß, gamma-d-lysiini-ja kolihappotähteen CH_2 ja CH); 0,98 (d,J = 7 Hz, 3H, kolihappotähteen CH_3-CH); 0.91 (s, 3H, kolihappotähteen C-CH_3); 0.7 (s, 3H, kolihappotähteen C-CH_3).

IR (KBr) cm^{-1}; 3400 (S,H_2O); 3100-2800 (S,nu* ($-NH_3^+$);2070 (W,delta $_{as}$ + delta$_{torsion}$ ($-NH_3^+$);1650 (s,delta $_{as}$ (NH_3^+); 1500 (m,nu$_{as}$ ($-COO^-$);1410 (m,nu$_{sy}$ ($-COO^-$)); 1220-1150 (s,nu$_{as}$ ($-SO_3^-$);1040 (m,nu$_{sy}$ ($-SO_3^-$).

* nu tarkoittaa kreikkalaista kirjainta ν

Esimerkki 2:

Nasaaliseen käyttöön tarkoitetut liuokset

Lohen kalsitoniini	110 I.U. - 4400 I.U.
Natriumsitraatti-dihydraatti	10.0 mg
Sitruunahappo-monohydraatti	10.0 mg
Taurokolihappo-lysinaatti	10.0 mg
Etyleenidiamiinitetraetikkahappo dinatriumsuola	1.0 mg
Bentsalkoniumkloridi	0.2 mg
Vesi	1.0 ml saakka

Tämä liuos saatettiin sumuttimeen ja suihkutettiin 0.09 ml per sierain suuruisena määränä. (Annosmäärä per sierain on esim. n. 10 I.U.).

Lohen kalsitoniinin sijasta voidaan käyttää muita polypeptidejä, esim.muita kalsitoniineja, jolloin formulointi voidaan suorittaa esim. aina 4400 I.U. per ml suuruisiksi määriksi. Myös somatostatiini voidaan formuloida tähän tapaan.

Esimerkki 3:

Nasaaliseen käyttöön tarkoitetut liuokset

Lohen kalsitoniini	110 I.U. - 4400 I.U.
Bentsalkoniumkloridi	0.11 mg
Natriumkloridi	8.5 mg
Taurokolihappo-lysinaattisuola	10.0 mg
HCl 0.1 n avulla pH 3.7	
Vesi	1.0 ml saakka

Typpiatmosfääri

Liuos saatettiin ampullaan ja se on sopiva käytettäväksi 0.09 ml suuruisina annosmäärinä (annos per sierain esim. 10 I.U.).

Lohen kalsitoniinin sijasta voidaan käyttää muita polypeptidejä, esim. muita kalsitonii neja, jolloin formulointi voidaan suorittaa esim. aina 4400 I.U. per ml suuruisiksi määriksi.

Esimerkki 4:

a) käytettiin esimerkin 2 mukaista vesiliuosta annoksena 100 I.U. lohen kalsitoniini per 0.09 ml ja annoksella suoritettiin vertailu,
b) vertailtava annos, joka sisälsi 1 p-% natriumtaurokolaattia, joka on hyvin tehokas tunnettu resorptiopromoottori, taurokolihappolysinaattisuolan sijasta, ja
c) toinen vertaileva annos, joka ei sisältänyt mitään resorptiopromoottoria.

Tulokset on esitetty kuvassa 1 ja ne on ilmaistu milli-kansainvälisenä yksikkönä lohen kalsitoniinia per ml plasma käyttöajan, h, funktiona. Kuvaajat a, b ja c vastaavat edellä esitettyjä seoksia. Lääkeyhdisteen pitoisuus plasmassa mitattiin radioimmunomäärityksen avulla.

Lohen kalsitoniinimäärityksiä tehtiin 6 h ajan antoajankohdasta lukien.

Annokset saatettiin kolmen rhesus apinan kumpaankin sieraimeen vertailtavissa olosuhteissa, mikä tarkoittaa, että koe-eläintä kohti annettiin kaikkiaan 200 I.U. lohen kalsitoniinia.

Biosaatavuus laskettiin annosta kuluneen ensimmäisen tunnin ajanjaksolta ja seosta c pidettiin vertailukohteena (= 100%):

a	b	c
429%	637%	100%

Paikallinen siedettävyys määritettiin kahdella kokeella 1. ja 2. ainekokoomuksen a tapauksessa ja yhdellä kokeella ainekokoomusten b ja c tapuksessa suorittamalla määritykset mikrofoto-oskillografisesti* ja ne ilmaistiin Hz (Hertsi). Tuloksia vertailtiin ei-käsiteltyihin eläimiin nähden (kontrollikoe).

*Marsuilla suoritetun 28 päivän nasaalisen käytön jälkeen

a	b	c	kontrollikoe
1. 12.59 Hz ± 0.05	0	10.55 ± 0.91	11.95 ± 0.58
2. 11.60 Hz ± 1.30	0		

Koe on kuvattu yksityiskohtaisesti seuraavissa julkaisuissa: Nasal brushing and measurement of cliliary beat frequency. An in vitro method for evaluating pharmacologic effects on human cilia Rutland J., Griffin W., Cole P. Julkaisussa: Chest 80, 6. joulukuuta 1981, Supplement; Die Wirkung von Bronchospasmolytika auf die Ciliarfrequenz in vitro, Nonietzko N., Kasparek R., Kellner U., Petro J.: Prax. Klin.Pneumol 37, (1983) 904-906.

Keksinnön mukainen ainekokoomus ja ainekokoomus c ilman resorptiopromoottoria eivät vaikuttaneet oskillaatiofrekvenssiin. Oskillaatio salpautui ainekokoomuksen b, joka sisälsi tunnettua resorptiopromoottoria, tapauksessa.

Johtopäätelmät:

Lohen kalsitoniinin biosaatavuus, kun sitä käytetään keksinnön mukaisen resorptoripromoottorin kanssa, on yhtä hyvä kuin käytettäessä yhdessä natriumtaurokolaatin kanssa, tarkasteltaessa normaalin biologisen vaihtelun puitteissa. Keksinnön mukaisen resorptoripromoottorin etu tunnettuun promoottoriin nähden on sen erinomainen siedettävyys, mikä merkitsee huomattavaa edistystä tällä käyttöalalla.

Esimerkki 5:

Oraaliseen käyttöön tarkoitetun kapselit

Lohen kalsitoniini	0.1 - 20 mg*
Taurokolihapon lysinaattisuola	50 mg
Mikrokiteinen selluloosa	100 mg
Laktoosi	50 mg

* 1 mg lääkeyhdistettä vastaa 4767 I.U.

Esimerkki 6:

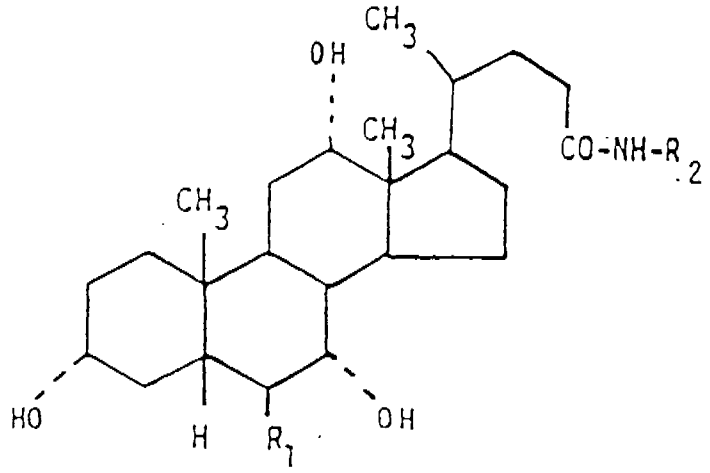
Rektaaliseen käyttöön tarkoitetut peräpuikot:

Lohen kalsitoniini	0.0692 mg
Vedetön sitruunahappo	0.78
Trinatriumsitraattidihydraatti	0.50
Mannitoli	48.651
Taurokolihappo-lysinaattisuola	30.0
Peräpuikkopohja A*	1420.0
	1500.0 mg

* Witepsol ® H.12, lineaarinen (C_{10-18})rasvahappoglyseridi, sulamispiste 32-33.5°, jähmettymisväli 29-33°C tuottaa Dynamit Nobel, Länsi-Saksa.

PATENTTIVAATIMUKSET

1. Happoadditiosuola, joka koostuu kaavan II mukaisesta anionista,



II

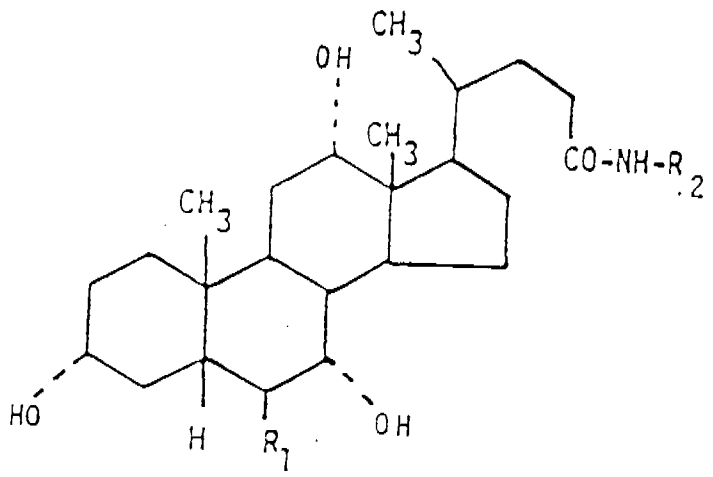
jossa R_1 tarkoittaa H tai OH; ja
R_2 tarkoittaa $-CH_2-COO^-$ tai $-CH_2-CH_2-SO_3^-$;
ja kationista, jolla on kaava



2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen suola, t u n n e t t u siitä, että suola on taurokoolihapon tai glykokoolihapon ja lysiinin muodostama suola.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen suola, t u n n e t t u siitä, että suola on taurokoolihapon lysinaattisuola.

4. Menetelmä patenttivaatimuksen 1 mukaisen happoadditiosuolan valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukainen anioni,



jossa R_1 ja R_2 tarkoittaa samaa kuin patenttivaatimuksessa 1, ja kationi, jolla on kaava,



yhdistetään keskenään ja otetaan talteen näin muodostunut suola.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen happoadditiosuola käytettäväksi apuaineena farmaseuttisessa valmisteessa.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen käyttö, t u n n e t t u siitä, että happoadditiosuolaa käytetään apuaineena transmukosaalisesti, edullisesti oraalisesti, nasaalisesti tai rektaalisesti annettavissa farmaseuttisissa koostumuksissa, jotka on tarkoitettu sisältämään peptidi- tai proteiinilääkeyhdisteitä, kuten vesiliukoisia peptidilääkeyhdisteitä.

7. Menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että ainakin yksi farmakologisesti aktiivinen aine seostetaan apuaineena käytettävän patenttivaatimuksen 1 mukaisen happoadditiosuolan sekä mahdollisesti farmaseuttisesti hyväksyttävän kantajan ja/tai laimennusaineen kanssa.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä,

t u n n e t t u siitä, että happoadditiosuolana käytetään taurokoolihapon lysinaattisuolaa.

9. Patenttivaatimuksen 7 tai 8 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että happoadditiosuola ja farmakologisesti aktiivinen aine/aineet seostetaan suhteessa 1:1 - 5000:1.

10. Jonkin patenttivaatimuksista 7-9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että happoadditiosuolaa seostetaan n. 0.1 - 10 p-% koostumuksen painosta.

11. Jonkin patenttivaatimuksista 7-10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että farmakologisesti aktiivisena aineena käytetään peptidi- tai proteiinilääkeyhdistettä, kuten vesiliukoista peptidilääkeyhdistettä, edullisesti kalsitoniinia, kuten lohen kalsitoniinia, tai oktreotidia.

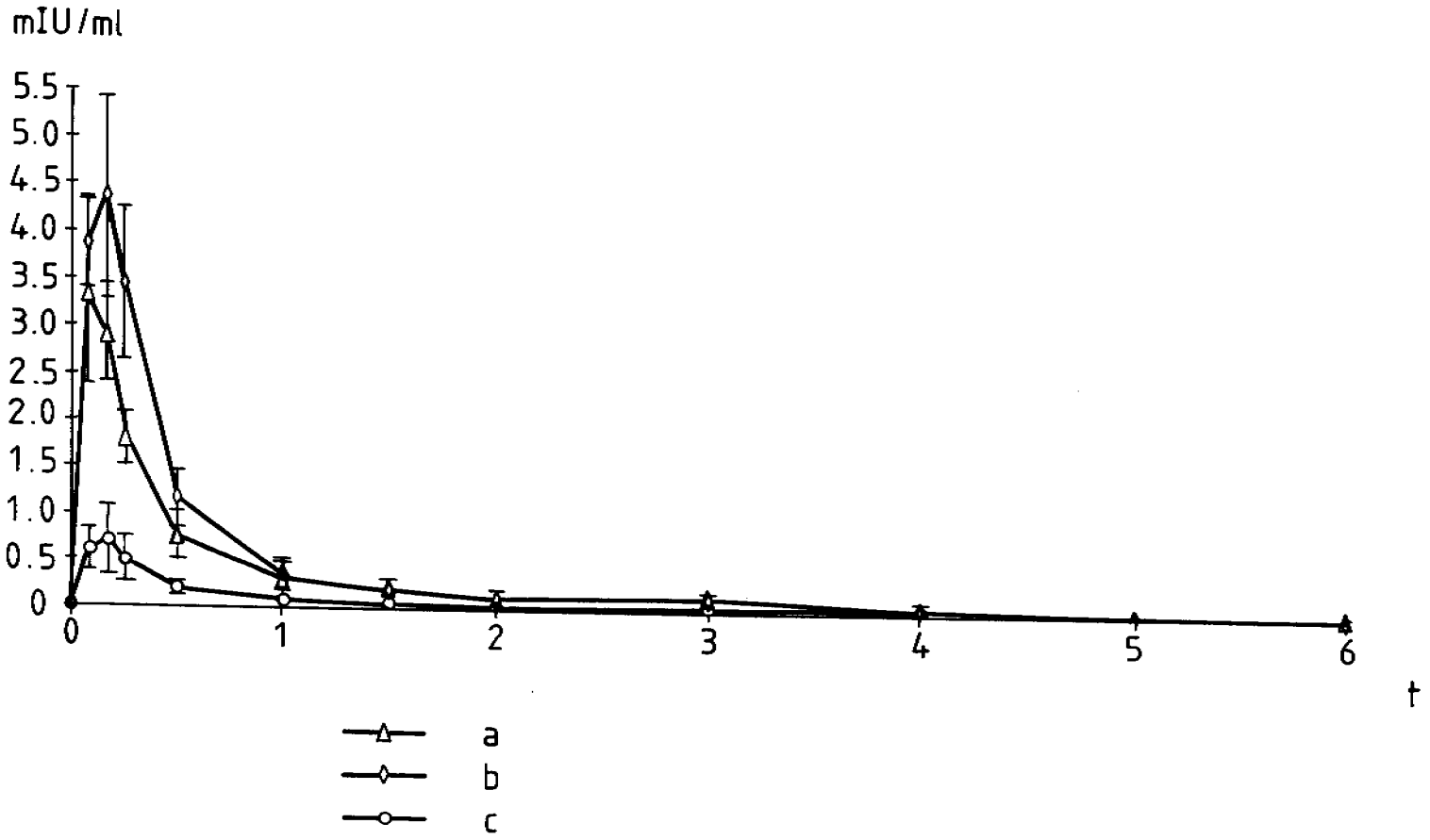
12. Jonkin patenttivaatimuksista 7-11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus saatetaan yksikköannosmuotoon siten, että se sisältää yksikköannosta kohden 2 mikrog - 20 mg peptidilääkeyhdistettä ja apuaineena 0.1 - 100 mg happoaddtiosuolaa.

13. Jonkin patenttivaatimuksista 9-12 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus saatetaan transmukosaaliseen, edullisesti oraaliseen, nasaaliseen tai rektaaliseen antoon tarkoitettuun muotoon.

14. Jonkin patenttivaatimuksista 7-13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus saatetaan natriumkloridia sisältävän vesiliuoksen muotoon.

15. Jonkin patenttivaatimuksista 7-14 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus saatetaan nasaaliseen antoon sopivaan muotoon, edullisesti jauhe- tai liuosmuotoon, sopivasti sumuttimesta annettavaan muotoon.

FIG. 1



PATENTTI-JA REKISTERIHALLITUS
PATENTTIOSASTO

TUTKIMUSRAPORTTI

PATENTTIHAK.NRO	LUOKKA	TUTKIJA	TUTKIMUSTUL. SAATU		
			FR	GB	US
892052	C07J		X	X	X

TUTKITUT LUOKAT	TUTKITUT MAAT FI SE NO DK CH DE WO EP GB US	TUTK. KESK. *)
C07J	X X X X	
A61K 37/02	X X X X	
A61K 37/00	X X X X	
C07K 5/06	X X X X	
A61K 37/24-40	X	
A61K 47	X X X X	

PATENTTIVIRASTOJEN JULKAISUT	LUOKKA	HUOM!
1) EP-B1-111841	A61K 9/06	
2) GB-A-2193891	A61K 37/02	
3) EP-A1-272462	C07J 41/00	Ei vast. Suom
4) EP-B1-115627	A61K 37/02	
5)		
6)		
7)		
8)		
9)		

*) TUTKIMUS KESKEYTETTY ESTEEN LÖYTYMISEN TAKIA

KÄÄNNÄ!

PATENTTIVIRASTOJEN JULKAISUT	LUOKKA	HUOM!
10)		
11)		
12)		
13)		
14)		
15)		
16)		
17)		
18)		
19)		

MUITA JULKAISUJA / ON-LINE TUTKIMUS, JOS TEHTY (TIETOKANTA, HAKUSANAT YM.)

Käsikirjahaku CA / Uhlmann's Encyclopedia

HELSINKI 20.11.1992
PÄIVÄYS

Jukka Jauhiainen
ALLEKIRJOITUS