



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 145 498** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **A 61 K 9/51**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 94002474/14, 13.01.1994
(24) Дата начала действия патента: 13.01.1994
(30) Приоритет: 18.01.1993 GB 9300875.3
(46) Дата публикации: 20.02.2000
(56) Ссылки: US 5118528 A, 02.06.92. FR 2504408 A, 29.10.82. SU 445185 A, 07.07.75.
(98) Адрес для переписки:
129010, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,
Городисский и партнеры

(71) Заявитель:
ЮЦБ (BE)
(72) Изобретатель: Анри Вранккс (BE),
Мартин Демустье (BE), Мишель Делеер (BE)
(73) Патентообладатель:
ЮЦБ (BE)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СОДЕРЖАЩИЙ НАНОКАПСУЛЫ, И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:
Изобретение относится к области фармацевтики и касается фармацевтического состава в форме коллоидной суспензии нанокапсул, который содержит масляную фазу, образованную, главным образом, маслом, содержащим в растворе поверхностно-активное вещество и в суспензии нанокапсулы, имеющие диаметр ниже 500 нм, включающие водную фазу, образованную, главным образом, раствором или суспензией терапевтически активного

вещества, поверхностно-активного вещества и в известных случаях этанола, а также способ получения этого состава. Стенки вышеназванных нанокапсул образованы поли(2-алкилцианоакрилатом), алкильный радикал которого содержит 1 - 6 атомов углерода. Изобретение решает задачу получения терапевтически активных веществ в виде микрокапсул уменьшенного размера, менее 1 мкм, по упрощенной технологии. 2 с. и 15 з.п.ф-лы, 2 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 145 498** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 9/51**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 94002474/14, 13.01.1994
(24) Effective date for property rights: 13.01.1994
(30) Priority: 18.01.1993 GB 9300875.3
(46) Date of publication: 20.02.2000
(98) Mail address:
129010, Moskva, ul.B.Spaskaja, 25, str.3,
Gorodisskij i partnery

(71) Applicant:
JuTsB (BE)
(72) Inventor: Anri Vrankks (BE),
Martin Demust'e (BE), Mishel' Deleer (BE)
(73) Proprietor:
JuTsB (BE)

(54) **NANOCAPSULES-CONTAINING PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND METHOD OF ITS MAKING**

(57) Abstract:

FIELD: pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical composition as colloidal nanocapsule suspension containing the oily phase formed by oil that has in solution a surface-active substance and nanocapsules in suspension (diameter is below 500 nM) and involving an aqueous phase formed by solution or suspension of therapeutically active substance, surface-active substance and ethanol in the

known cases and the method of making the composition to be proposed. Walls of the above indicated nanocapsules are formed by poly-(2-alkylcyanoacrylate) being alkyl radical of that has from 1 to 6 carbon atoms. Invention provides to obtain microcapsules of decreased size (below 1 mcm) showing the therapeutical activity of substance to be proposed. EFFECT: simplified technology, improved method of capsule making. 17 cl, 2 tbl, 17 ex

Настоящее изобретение относится к новым фармацевтическим составам, особенно к фармацевтическим составам для орального назначения, имеющим форму коллоидной суспензии нанокапсул поли (2-алкилцианоакрилата) в масляной фазе, которые содержат раствор или водную суспензию терапевтически активного вещества. Оно относится также к способу приготовления этих составов.

Уже известны фармацевтические составы в форме капсул, содержащие водную фазу, которая исключает биологически-активное вещество.

Так, в немецкой заявке на патент N 3341001 описаны наночастицы и нанокапсулы со средним диаметром, составляющим 200-900 нм, которые содержат дисперсную водную или гидрофильную фазу, содержащую по меньшей мере 3% активного вещества. Стенка нанокапсул образована полимеризацией такого биоразлагаемого мономера как 2-алкилцианоакрилата. Для образования нанокапсул мономер добавляют в виде раствора в безводном хлороформе к предварительно приготовленной эмульсии, образованной дисперсной гидрофильной фазой, водой, или, например, ошелаченным метанолом, содержащей лечебное вещество в растворе и дисперсной гидрофобной фазой, образованной органическим растворителем, не смешиваемым с водой, хлороформом, толуолом, или, например, изооктаном, содержащей поверхностно-активное вещество. В примере 1 этой заявки на патент дисперсная фаза представляет водный раствор метиленового голубого, непрерывная органическая фаза представляет смесь хлороформа и толуола и биоразлагаемым мономером является 2-метилцианоакрилат. После полимеризации выделяют нанокапсулы из непрерывной фазы; для этого полученные нанокапсулы центрифугируют, затем их обильно промывают и подвергают сублимационной сушке, чтобы освободить от всех нежелательных органических растворителей. Получают порошок, который в конечном счете должен быть повторно кондиционирован, чтобы получить состав, назначаемый с целью медицинского применения.

В японской заявке на патент 61521/85 описывают микрокапсулы, диаметр которых составляет 1-500 мкм и которые включают водную фазу, содержащую медикамент в растворе или в суспензии в водном растворе такого биосовместимого полимера, как альбумин, декстран, желатина или коллаген. Эти микрокапсулы готовят присоединением при перемешивании 2-алкилцианоакрилата, в котором радикал алкила включает от 1 до 8 атомов углерода и который не растворяется в растворителе, к эмульсии типа вода в масле, приготовляемой присоединением водной фазы к малорастворимому в воде органическому растворителю, который в известных случаях может содержать поверхностно-активное вещество. После полимеризации 2-алкилцианоакрилата на поверхности раздела двух фаз выделяют микрокапсулы. Для этого суспензию микрокапсул в органическом растворителе разбавляют углеводородным растворителем с низкой точкой кипения, например петролевым

эфиром или гексаном, и затем фильтруют суспензию на мембранном фильтре. Остаток на фильтре обильно промывают тем же растворителем и затем сушат в вакууме при 40°C, чтобы удалить все следы органических растворителей и воду. Полученный таким путем фармацевтический препарат имеет форму микрокапсул, которые включают медикамент, растворенный или диспергированный в водном растворе биосовместимого полимера. Этот препарат предназначен для инъекции и он должен повторно кондиционироваться для медицинского применения. В частности, в примерах этой заявки на патент органическим растворителем является масло из семян хлопка, биосовместимым полимером является сывороточный альбумин быка и медикаментом является карциноостатическое вещество. Однако эта японская заявка на патент описывает только растворы для инъекций, но не упоминает о фармацевтических составах, которые пригодны для орального назначения.

Фармацевтические составы, приготовленные по способам, описанным выше, имеют несколько серьезных недостатков.

Во-первых, хорошо известно, что для получения хорошей абсорбции терапевтически активных веществ в желудочно-кишечном тракте нужно, чтобы диаметр частиц, капсулирующих эти вещества, был как можно меньше. По этой причине частицы, которые имеют диаметр ниже 1 мкм, гораздо лучше пригодны для приготовления фармацевтического состава, предназначенного для орального назначения. Поэтому микрокапсулы, диаметр которых выше 1 мкм и обычно от 1 до 500 мкм, согласно японскому патенту не подходят для этой цели.

Во-вторых, органические растворители (изооктан, ошелаченный метанол, хлороформ, толуол, петролевым эфир), которые обычно необходимы для приготовления капсул, представляют неприемлемые растворители с точки зрения фармацевтики, по причине их повышенной токсичности; следовательно, они не допускают прямого назначения препарата. Это влечет за собой введение трудоемкой дополнительной операции, которая включает отделение капсул в чистом состоянии, например, фильтрованием на мембране или ультрафильтрованием и тщательной очисткой капсул от всех следов растворителей, несовместимых с терапевтическим применением. Из этого следует, что после очистки капсулы требуют соответственно нового составления рецептуры, чтобы их можно было беспрепятственно назначать пациенту.

В-третьих, в некоторых случаях, как это видно в вышеупомянутой японской заявке на патент, получение капсул обязательно вызывает присутствие макромолекулы, например, сывороточного альбумина быка или декстрина. Однако следует заметить, что эти макромолекулы животного происхождения могут вызывать нежелательные иммунологические реакции и сильные анафилактические шоки от приема декстринов хорошо известны.

Ввиду того, что оральный метод

назначения остается одним из предпочитаемых методов введения медикаментов, поскольку инъекции обычно являются болезненными для пациентов и пугают их, то желательно располагать фармацевтическими составами для орального назначения, которые имели бы форму субмикроскопических капсул, содержащих вещество с терапевтической активностью, в растворе или в суспензии в водной фазе, которые не имели бы недостатков известных составов.

Преимущество субмикроскопических капсул заключается в том, что они могут расщепляться в желудке, когда медикаменты имеют структуру пептидов.

Поэтому желательно, чтобы субмикроскопические капсулы были образованы биорасщепляемым веществом и их размер был достаточно маленьким для хорошего всасывания в желудочно-кишечном тракте, и чтобы одновременно или содержали в капсулированной форме повышенное количество фармацевтически активного вещества. Кроме того, такие составы не требуют дополнительных стадий выделения, очистки и рекондиционирования, что значительно упрощает их изготовление.

Предлагаемые фармацевтические составы полностью соответствуют этим целям.

Фармацевтический состав согласно изобретению в форме коллоидной суспензии нанокапсул отличается тем, что он включает маслянистую фазу, образованную, главным образом, маслом, содержащим растворенное поверхностно-активное вещество и суспензию нанокапсул с диаметром ниже 500 нм, содержащих водную фазу, образованную, главным образом, раствором или суспензией терапевтически активного вещества и поверхностно-активного вещества в воде, величина pH которого составляет между 1 и 7, причем стенка нанокапсул образована из поли(2-алкилцианоакрилата), алкильный радикал которого включает от 1 до 6 атомов углерода.

Настоящее изобретение касается также способа получения фармацевтического состава, описанного выше, который отличается тем, что

а) готовят водную суспензию, образованную, главным образом, раствором или суспензией терапевтически активного вещества и поверхностно-активного вещества в воде, pH которой составляет между 1 и 7;

б) добавляют медленно, при перемешивании эту водную фазу в масляную фазу, образованную, главным образом, маслом, содержащим растворенное поверхностно-активное вещество;

с) добавляют при перемешивании к полученной эмульсии типа вода в масле, по меньшей мере, один 2-алкилцианоакрилат, алкильный радикал которого содержит от 1 до 6 атомов углерода, без растворителя, затем оставляют для осуществления полимеризации при комнатной температуре на период времени, достаточный для осуществления полимеризации введенного 2-алкилцианоакрилата и получают суспензию в масляной фазе нанокапсул с диаметром ниже 500 нм, содержащих указанную водную фазу.

Масляная фаза фармацевтических

составов по изобретению образована, главным образом, фармацевтически приемлемым нейтральным маслом, содержащим растворенное поверхностно-активное вещество. Это масло может быть растительным маслом, минеральным маслом или любым масляным соединением, нерастворимым в воде, таким как бензилбензоат или глицериды высших жирных кислот C₆-C₁₈. Среди этих последних используют преимущественно Миглион, как например Миглион 812, которые представляют собой нейтральное масло, образованное смесью триглицеридов насыщенных жирных кислот, с длинной цепью, главным образом, с 8-10 атомами углерода.

Водная фаза, содержащаяся в центральной полости нанокапсул, образована главным образом, раствором или суспензией терапевтически активного вещества, растворимого или нерастворимого в воде; она содержит также поверхностно-активное вещество. Эта водная фаза содержит предпочтительно также некоторое количество этилового спирта. Присутствие этого этилового спирта имеет целью придавать стенкам нанокапсул более значительную твердость. Количество этанола, который можно добавлять к водной фазе, составляет обычно между 100 мкл и 1 000 мкл на 1 мл водной фазы, а преимущественно между 200 мкл и 500 мкл на 1 мл водной фазы.

По изобретению pH водной фазы следует регулировать между 1 и 7 при помощи фармацевтически приемлемой кислоты или соответствующего буферного раствора, например, до 4,3 при помощи уксусного буферного раствора. Если pH превышает величину 7, получают капсулы с диаметром выше 500 нм, и даже с размером капсул выше микрометра.

Объемное отношение водной фазы и масляной фазы составляет обычно между 1/100 и 20/100, а преимущественно между 5/100 и 15/100.

Поверхностно-активные вещества, которые можно использовать в фармацевтических составах по изобретению, представляют фармацевтически приемлемые поверхностно-активные вещества. Они могут быть природными поверхностно-активными веществами или, например, дезоксихолевая кислота, или те или другие соли желчных кислот или их производные, или синтетическими поверхностно-активными веществами. В этом последнем случае они могут быть или анионного типа (как лаурилсульфат натрия или диоктилсульфосукцинат натрия), или катионного типа (как соли четвертичного аммония), или неионного типа (как сложные эфиры жирных кислот полиоксиэтиленсорбитанов, например Соан 80, или смешанные производные окиси этилена и пропиленгликоля, например плуроник F 68).

Испытания, проведенные заявителем, показали необходимость одновременного присутствия поверхностно-активного вещества в водной фазе и в масляной фазе, чтобы получать размер нанокапсул в соответствии с изобретением ниже 500 нм, преимущественно больше, чем 80 нм.

Поверхностно-активные вещества

растворяют соответственно в подходящей жидкости, которая образует водную внутреннюю фазу или масляную наружную фазу. Например, в водной фазе используют лаурилсульфат натрия, диоктилсульфосукцинат натрия, сложные эфиры жирных кислот полиоксиэтиленсорбитанов и смешанные производные окиси этилена и пропиленгликоля и полиэтоксипропиленгликоля, преимущественно используют лаурилсульфат натрия. В масляной фазе используют сложные эфиры сорбитана и растворимые соли желчных кислот, преимущественно сорбитанмоноолеат (Спан 80) или дезоксихолевую кислоту.

Концентрация поверхностно-активного вещества в водной фазе составляет обычно между 0,1 и 10%, преимущественно между 3 и 5 вес.% поверхностно-активного вещества на 1 объем водной фазы.

Концентрация поверхностно-активного вещества в масляной фазе составляет обычно между 0,1 и 20% преимущественно между 5 и 15 вес.% поверхностно-активного вещества на 1 объем масляной фазы.

Стенка нанокапсул, находящихся в суспензии в фармацевтических составах по изобретению, образована биоразлагаемым поли-(2-алкилцианоакрилатом), полученным мицеллярной полимеризацией, по меньшей мере, 2-алкилцианоакрилата, в котором радикал алкила, прямой или разветвленный, содержит от 1 до 6 атомов углерода. Поли(2-алкилцианоакрилаты), которые особенно хорошо подходят для настоящего изобретения, получают мицеллярной полимеризацией 2-п-бутилцианоакрилата и 2-п-гексилцианоакрилата. Эти 2-алкилцианоакрилаты можно использовать одни или в смеси, разумеется, при том условии, что стенка нанокапсул может состоять из полимеров или сополимеров 2-алкилцианоакрилатов.

2-алкилцианоакрилат добавляют как таковой, без растворителя, в полимеризационную среду. По изобретению эту полимеризацию осуществляют при комнатной температуре в течение преимущественно 3-8 ч.

Терапевтически активное вещество, используемое в фармацевтических составах по изобретению, содержится в водной фазе, присутствующей в центральной полости нанокапсул. Любое лекарственное вещество, растворимое в воде или малорастворимое в воде, может быть использовано в этих составах. В частности, новые составы по изобретению преимущественно используют для капсулирования полипептидов, таких как кальцитонин, соматостатин или инсулин и полисахаридов, например гепарина. Хорошо известно, что эти вещества очень быстро разрушаются протеолитическими ферментами, присутствующими в желудочно-кишечном тракте, когда их применяют для орального назначения. При этом составы по изобретению, использующие эти вещества в виде капсул, показывают значительную фармацевтическую активность.

Фармацевтические составы по изобретению и способ их получения имеют очень важные преимущества по сравнению с уровнем техники:

- нанокапсулы с диаметром ниже 500 нм и

особенно от 80 до 450 нм, показывают отличную абсорбцию на уровне слизистой оболочки кишечника;

- отличная физическая устойчивость нанокапсул, которая сохраняется, по меньшей мере, после 18 месяцев их хранения при комнатной температуре и при 4°C;

- ввиду полного отсутствия органических растворителей при получении нанокапсул и фармацевтического состава, отделение и трудоемкая очистка нанокапсул, устраняется операция по очистке их от любых следов растворителя, несовместимого с терапевтическим применением;

- ввиду отсутствия макромолекул животного происхождения, таких как альбумин и декстран, устраняется опасность нежелательных иммунологических реакций (например, анафилактический шок);

- так как все компоненты (масло, вода, поверхностно-активные вещества) были выбраны среди фармацевтически приемлемых веществ, получают фармацевтический состав, непосредственно готовый для применения, безвредность которого гарантирована.

Следовательно, полученный состав может быть назначен непосредственно для орального введения (или в известных случаях также для внутримышечного введения) и нет необходимости для предварительного выделения нанокапсул, для их очистки и их диспергирования в соответствующей среде. Кроме того, он может быть также использован непосредственно при гелеобразовании для орального назначения;

- фармацевтический состав приготавливают простым способом, который может быть легко осуществлен в промышленном масштабе.

Нижеследующие примеры даны с целью иллюстрации изобретения без его ограничения. Примеры 1-5 и 8 предназначены для иллюстрации способа получения суспензии в масле нанокапсул, содержащих водную фазу, примеры 6, 7 и 9-16 иллюстрируют фармацевтический состав в форме нанокапсул, содержащих вещество с терапевтической активностью.

Физическую устойчивость полученного таким путем фармацевтического препарата определяют прямым наблюдением за отсутствием образования двух различных фаз, водной и масляной, после нескольких месяцев перерыва в работе, а также измерением через равные промежутки времени среднего размера нанокапсул, диспергированных в масле. Средний размер нанокапсул измеряют при помощи аппарата "Coulter Model N4 MD Sub-micron Particle Analyzer".

Пример 1

Медленно добавляют 1 мл уксусно-водного буферного раствора с pH 4,3 (состав буферного раствора: ледяная уксусная кислота 2 г, ацетат натрия 2 г, хлористый натрий 7,5 г, деминерализованная вода, для получения 1 л раствора, содержащего 6 вес.% на объем лаурилсульфата натрия, при комнатной температуре, при интенсивном перемешивании (1200 об/мин) в 10 мл Миглиола 812 (нейтральное масло), образованное смесью триглицеридов насыщенных жирных кислот C₈-C₁₀), содержащего 15 вес.% на 1 объем

сорбитанмоноолеата (Спан 80). Суспензию перемешивают при тех же условиях в течение 15 мин, затем добавляют 100 мл п-бутил-2-цианоакрилата и оставляют для осуществления полимеризации мономера на 240 ч. Таким путем получают суспензию в масле нанокапсул, содержащих воду, имеющих средний размер 255 нм.

Эти нанокапсулы не имеют никакого значительного изменения своего размера после хранения в течение, по меньшей мере, 18 месяцев при комнатной температуре и при 4°C.

Пример 2

Приготавливают нанокапсулы, используя тот же способ, как в примере 1, но заменяют уксусно-водный буферный раствор фосфатоводным буферным раствором с pH 7 (состав буферного раствора: 39 мл 0,2-молярного раствора $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 61 мл 0,2-молярного раствора $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и 100 мл дистиллированной воды).

Полученные нанокапсулы с водным содержанием имеют средний размер 422 нм.

Пример 3

Работают при тех же условиях, как в примере 1, но кроме этого водная фаза содержит суспензию 0,25 мл красителя, нерастворимого в воде (FDC голубой 2 HT алюминий, крапран, сертификат N AA2C41, Колоркон).

Таким путем получают нанокапсулы, содержащие водную суспензию красителя и имеющие средний размер 246 нм.

Пример 4

Приготавливают нанокапсулы, используя такой же способ, как в примере 2, но на этот раз масляной фазой является Миглиол 829 (масло, образованное смесью триглицеридов насыщенных жирных кислот с C_8 - C_{10} и 15-20% янтарной кислоты).

Таким путем получают нанокапсулы с содержанием воды, имеющие средний размер 246 нм.

Пример 5

Приготавливают нанокапсулы по способу примера 2, но заменяют п-бутил-2-цианоакрилат на п-гексил-2-цианоакрилат и оставляют для полимеризации на 8 ч.

Получают нанокапсулы с содержанием воды, имеющие средний размер 213 нм.

Физическая устойчивость этих нанокапсул отличная: не наблюдают никакого значительного изменения их размера после хранения при комнатной температуре в течение по меньшей мере 12 месяцев.

Пример 6

Работают, как указано в примере 1, но водная фаза содержит также 1100 международных единиц кальцитонина.

Получают нанокапсулы, имеющие средний размер 177 нм, водная фаза которых содержит медикамент.

Физическая устойчивость этих нанокапсул отличная: нет никакого значительного изменения их размера после, по меньшей мере, 12 месяцев хранения при комнатной температуре или при 4°C.

Пример 7

Приготавливают нанокапсулы по способу примера 1, но заменяют п-бутил-2-цианоакрилат на п-гексил-2-цианоакрилат, и водная фаза содержит кроме этого 1100 U1 кальцитонина.

После 4 ч полимеризации получают нанокапсулы, имеющие средний размер 211 нм: водная фаза которых содержит медикамент.

Физическая устойчивость этих капсул отличная: нет значительного изменения их размера в течение, по меньшей мере 11 месяцев хранения при комнатной температуре и при 4°C.

Пример 8

Работают, как указано в примере 1, но водная фаза содержит 400 мл этанола.

После 4 ч полимеризации полученные нанокапсулы с содержанием воды имеют средний размер 211 нм.

Физическая устойчивость этих нанокапсул отличная: не появляется никакого значительного изменения размера после, по меньшей мере, 12 месяцев хранения при комнатной температуре или при 4°C.

Эти капсулы, которые содержат небольшое количество этанола, имеют более высокую твердость стенки, чем твердость стенки нанокапсул, полученных в примере 1, которые не содержат этанола.

Эту твердость стенки определяют при помощи опыта с центрифугированием, в ходе которого нанокапсулы, суспензированные в масле, подвергают центрифугированию при 20 000 об/мин в течение двух часов. Нанокапсулы, полученные в этом примере, показывают превосходную стойкость в этом испытании.

Пример 9

Используя способ примера 8, готовят нанокапсулы, водная фаза которых представляет 0,025%-ный раствор (вес на объем) метиленового синего в воде. Получают нанокапсулы, имеющие средний размер 205 нм. Процент капсулирования красителя достигает 98,3%.

Пример 10

Используя способ примера 8, получают нанокапсулы, водная фаза которых содержит 300 единиц USP гепарина. Получают нанокапсулы, имеющие средний размер 127 нм.

Пример 11

Используя способ примера 8, получают нанокапсулы, водная фаза которых содержит 0,9 мг соматостатина. Получают нанокапсулы, имеющие средний размер 201 нм.

Пример 12

Используя способ примера 8, получают нанокапсулы, водная фаза которых содержит 11000 U1 кальцитонина. Средний размер нанокапсул в суспензии в этом препарате составляет 211 нм. Добавляют дезоксихолевую кислоту, диспергированную в Миглиоле 812, чтобы получить 0,02-молярную концентрацию дезоксихолевой кислоты в смеси.

Пример 13

Работают, как указано в примере 13, но водная фаза содержит 110000 U1 кальцитонина. Средний размер полученных нанокапсул составляет 225 нм.

Пример 14

Этот пример имеет целью сравнение эффективности различных препаратов кальцитонина, назначаемых крысам различными методами введения: оральный, через двенадцатиперстную кишку, через подвздошную область и внутривенный.

Физиологический ответ на введение

кальцитонина в организме выражается уменьшением процентного содержания кальция, свободно циркулирующего в крови.

Суспензию нанокапсул, содержащую кальцитонин, полученную и примере 13, вводят крысам породы Wistar мужского пола (вес: 200 ± 20 г), которые анестезированы пентобарбиталом (60 мг/кг), при дозе 20 U1 кальцитонина на 1 животное. Введение осуществляют через рот, через двенадцатиперстную кишку или через подвздошную область.

Для сравнения такую же дозу кальцитонина вводят в форме водного раствора контрольным крысам внутривенным путем.

Пробы крови берут на анализ через разные интервалы из хвостовой вены. После свертывания крови и центрифугирования (2 x 10 мин при 6 000 об/мин) сыворотки крови разбавляют и производят анализ на содержание кальция при помощи атомного абсорбционного спектрометра. Результаты анализов, соответствующих каждому виду введения, позволяют составить график, включающий процентное содержание кальция в сыворотке в зависимости от времени. Поверхности под кривыми, соответствующими оральному пути введения, через двенадцатиперстную кишку или через подвздошную область, вычисляли и сравнивали с поверхностями, полученными при внутривенном введении, которое соответствует максимальной наблюдаемой активности и которое поэтому принято за 100%.

Результаты этих темпов показывают, что через 4 ч после введения животному препарата кальцитонина оральным путем или прямо в двенадцатиперстную кишку или в подвздошную область, наблюдают во всех случаях уменьшение содержания кальция в сыворотке, соответствующее 73% от действия вызванного внутривенным назначением такой же дозы кальцитонина. Таким образом, активность, полученная после орального назначения фармацевтического состава по изобретению, такая же хорошая, как активность, наблюдаемая после назначения того же препарата более мягким путем, внутрь двенадцатиперстной кишки или внутрь подвздошной области.

Пример 15

Действуют, как указано в примере 1, но уксусно-водный буферный раствор с pH 4,3 заменяют уксусно-водным буферным раствором с pH 3,6 (состав буферного раствора: 46,3 мл 0,2-молярного раствора ледяной уксусной кислоты, 3,7 мл 0,2-молярного раствора ацетата натрия и 50 мл дистиллированной воды). Кроме того, водная фаза содержит 780 U1 инсулина-цинка быка и 200 мкл этанола.

Получают нанокапсулы с содержанием воды, имеющие средний размер 250 нм.

Пример 16

Влияние этанола на твердость нанокапсул. Наблюдения, осуществленные в примере 8, в отношении твердости стенок нанокапсул в присутствии этанола или при отсутствии этанола в водной фазе, находят подтверждение тестом, осуществленным в этом примере.

По условиям теста, описанного в примере 14, вводят крысам оральным путем состав,

полученный в примере 12, который содержит 400 мкл этанола и 0,02 моль дезоксихолевой кислоты, а также состав, полученный по такому же способу примера 12, но который не содержит этанола. Полученные результаты сравнивают, как в примере 14, с действием, полученным при внутривенном введении идентичной дозы кальцитонина в водном растворе.

Полученные результаты даны в таблице 1. Колонка 3 этой таблицы показывает уменьшение в % содержания кальция в сыворотке в течение четырех часов.

Эта таблица показывает, что состав, который не содержит этанола, вызывает уменьшение содержания кальция в сыворотке только на 7% в течение четырех часов, в противоположность составу, который содержит этанол и который вызывает уменьшение на 48%.

Это различие объясняется тем, что твердость стенок нанокапсул, которые не содержат этанола, более слабая. В этом случае значительное количество этих нанокапсул не устойчиво при прохождении через желудок, в котором определенное количество кальцитонина переваривается под действием протеолитических ферментов. Из этого следует, что только меньшее количество кальцитонина достигает кишечника, где оно эффективно всасывается, вызывая таким путем физиологический ответ меньшей интенсивности.

Пример 17 (сравнительный)

Используя способ примера 8, получают нанокапсулы, водная фаза которых содержит возрастающее количество сывороточного альбумина быка (BSA N A-8022, выпускаемого в продажу Сигма Корпорейшн), равное 50, 100, 150 и 300 мг на 1 мл водной фазы.

Используя способ примера 12, получают нанокапсулы, водная фаза которых содержит также BSA, из расчета 300 мг/ мл.

Во всех случаях получают препарат, содержащий две популяции капсул, которые отличаются своими средними размерами.

В таблице 2 дают средний размер капсул и процентное содержание каждой из двух популяций капсул, полученных в зависимости от содержания BSA в водной фазе.

Результаты таблицы 2 показывают, что присутствие в водной фазе биополимера, такого как сывороточный альбумин быка (как в японской заявке на патент 61521/85), не позволяет получать состав по изобретению, содержащий однородную популяцию нанокапсул, имеющих средний размер ниже 500 нм. Процентное содержание нанокапсул уменьшается по мере того, как повышается количество BSA, присутствующее в водной фазе, и практически ничтожное, когда это количество равно 300 мг BSA на 1 миллилитр водной фазы.

Формула изобретения:

1. Фармацевтический состав в форме коллоидной суспензии нанокапсул с диаметром менее 500 нм, в которых заключена водная фаза, образованная главным образом раствором или суспензией терапевтически активного вещества и поверхностно-активного вещества в воде и имеющая pH буферосодержащей среды 1 - 7, оболочка нанокапсул сформована из поли(2-алкилакрилата), в котором радикал алкил содержит 1 - 6 атомов углерода, причем

нанокапсулы находятся в виде суспензии в масле, которое представляет собой растительное масло, минеральное масло или маслянистое соединение, выбранное из бензилбензоата и глицеридов жирных кислот высших и которое содержит растворенное в нем поверхностно-активное вещество.

2. Фармацевтический состав по п.1, отличающийся тем, что терапевтически активным веществом является полипептид или полисахарид.

3. Фармацевтический состав по любому из пп.1 и 2, отличающийся тем, что терапевтически активным веществом является кальцитонин, соматостатин, инсулин или гепарин.

4. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 3, отличающийся тем, что водная фаза содержит 100 - 1000 мкл этанола, предпочтительно 200 - 500 мкл на миллилитр водной фазы.

5. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 4, отличающийся тем, что объемное отношение водной фазы к масляной фазе составляет 1 : 100 - 20 : 100, предпочтительно 5 : 100 - 15 : 100.

6. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 5, отличающийся тем, что поверхностно-активное вещество водной фазы выбрано из лаурилсульфата натрия, диоктилсульфосукцината натрия, сложных эфиров жирных кислот полиоксиэтиленсорбитана, смешанных производных окиси этилена и пропиленгликоля и полиэтоксипропиленгликоля, предпочтительно лаурилсульфата натрия.

7. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 6, отличающийся тем, что концентрация поверхностно-активного вещества в водной фазе составляет 0,1 - 10%, преимущественно 3 - 5 вес.%, на один объем воды.

8. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 7, отличающийся тем, что поверхностно-активное вещество масляной фазы выбрано из сложных эфиров жирных кислот сорбитана и растворимых солей желчных кислот, предпочтительно сорбитанмоноолеата.

9. Фармацевтический состав по любому из пп.1 - 8, отличающийся тем, что концентрация поверхностно-активного вещества в масляной фазе составляет 0,1 - 20%, предпочтительно 5 - 15 вес.%, на один объем масляной фазы.

10. Способ получения фармацевтического состава по любому из пп.1 - 9, отличающийся тем, что

а) готовят водную фазу, образованную главным образом раствором или суспензией

терапевтически активного вещества и поверхностно-активного агента в воде, pH среды которой, содержащей буфер, составляет 1 - 7,

б) добавляют медленно без перемешивания полученную фазу в масляную фазу, образованную главным образом маслом, которое представляет собой растительное масло, минеральное масло или маслянистое соединение, выбранное из бензилбензоата и глицеридов жирных кислот высших, и содержащую растворенное поверхностно-активное вещество,

в) в полученную эмульсию типа вода-в-масле вводят при перемешивании по меньшей мере один 2-алкилцианоакрилат, алкильный радикал которого содержит 1 - 6 атомов углерода, без растворителя, затем осуществляют полимеризацию в течение времени, достаточного для полимеризации введенного 2-алкилцианоакрилата, и получают в качестве продукта реакции суспензию в масляной фазе нанокапсул, имеющих диаметр ниже 500 нм и содержащих указанную водную фазу.

11. Способ по п.10, отличающийся тем, что полимеризацию 2-алкилцианоакрилата осуществляют в течение 3 - 8 ч.

12. Способ по любому из пп.10 и 11, отличающийся тем, что терапевтически активное вещество представляет собой кальцитонин, соматостатин, инсулин или гепарин.

13. Способ по любому из пп.10 - 12, отличающийся тем, что водная фаза содержит этанол в количестве 100 - 1000 мкл, преимущественно 200 - 500 мкл, на миллилитр водной среды.

14. Способ по любому из пп.10 - 13, отличающийся тем, что поверхностно-активное вещество водной фазы представляет собой лаурилсульфат натрия.

15. Способ по любому из пп.10 - 14, отличающийся тем, что концентрация поверхностно-активного вещества в водной фазе составляет 0,1 - 10%, преимущественно 3 - 5 вес.%, на 1 объем водной фазы.

16. Способ по любому из пп.10 - 15, отличающийся тем, что поверхностно-активное вещество масляной фазы представляет собой сорбитанмоноолеат.

17. Способ по любому из пп.10 - 16, отличающийся тем, что концентрация поверхностно-активного вещества в масляной фазе составляет 0,1 - 20%, преимущественно 5 - 15 вес.%, на 1 объем масляной фазы.

55

60

Т а б л и ц а 1

Метод введения	Количество этанола (мкл)	Количество кальция (уменьшение в %)
оральный	-	7
оральный	400	48
внутривенный	-	100

Т а б л и ц а 2

BSA (мг/мл)	Кальцитонин (UI)	Средний размер капсул (нм.)	Процентное содержание
50	-	294	75
		3000	25
100	-	215	30
		1040	70
150	-	520	22
		1930	78
300	-	225	2
		2610	98
300	1100	225	1
		4690	99

RU 2145498 C1

RU 2145498 C1