

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-525123

(P2004-525123A)

(43) 公表日 平成16年8月19日(2004.8.19)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/23	A 6 1 K 37/30	4 C O 7 6
A 6 1 K 9/32	A 6 1 K 9/32	4 C O 8 4
A 6 1 K 47/04	A 6 1 K 47/04	
A 6 1 K 47/12	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 47/18	A 6 1 K 47/18	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 52 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-571034 (P2002-571034)	(71) 出願人	503195300
(86) (22) 出願日	平成14年3月8日 (2002.3.8)		ユニジーン・ラボラトリーズ・インコーポ
(85) 翻訳文提出日	平成15年9月8日 (2003.9.8)		レーテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/007197		アメリカ合衆国・ニュージャージー・O 7
(87) 国際公開番号	W02002/072075		O O 4・フェアフィールド・リトル・フォ
(87) 国際公開日	平成14年9月19日 (2002.9.19)		ールズ・ロード・1 1 O
(31) 優先権主張番号	60/274, 317	(74) 代理人	100062144
(32) 優先日	平成13年3月8日 (2001.3.8)		弁理士 青山 稔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100067035
			弁理士 岩崎 光隆
		(74) 代理人	100064610
			弁理士 中嶋 正二
		(74) 代理人	100072730
			弁理士 小島 一晃
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 経口ペプチド医薬投与形および製造方法

(57) 【要約】

ペプチドの経口送達のための医薬組成物であって、少なくとも1つの薬学的に許容されるpH低下剤を含む第1層および医療上有効な量のペプチドを含む第2層を有する形成層を有する。第2層は医療上有効な量のペプチドを含む。組成物はまた、ペプチドのバイオアベイラビリティを促進するのに有効な少なくとも1つの吸収向上剤を好ましくは第2層に、および腸溶性被膜を形成層の周りに含む。錠剤の好ましい投与形において、pH低下剤と腸溶性被膜との接触を実質的に防ぐ水溶性被膜を、形成層と腸溶性被膜との間に設ける。好ましい実施態様において、ペプチドはサケ・カルシトニン、pH低下剤はクエン酸、吸収向上剤はラウロイル 1-カルニチンである。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ペプチドの経口送達のための医薬組成物であって、
少なくとも 1 つの薬学的に許容される pH 低下剤を含む第 1 層および医療上有効な量のペ
プチドを含む第 2 層を有する形成層；
該ペプチドのバイオアベイラビリティを促進するのに有効な少なくとも 1 つの吸収向上剤
；
形成層の周りに腸溶性被膜；
を含む医薬組成物。

【請求項 2】

10

該第 2 層が該吸収向上剤をさらに含む、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 3】

該医薬組成物が形成層の周りで該形成層と該腸溶性被膜との間に位置する水溶性被膜をさ
らに含む、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 4】

該腸溶性被膜が、医薬組成物の該腸溶性被膜を除く残留物重量の 20 % を越えない重量で
存在する、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 5】

該腸溶性被膜が、医薬組成物の該腸溶性被膜を除く残留物重量の 5 - 15 % の重量で存在
する、請求項 1 の医薬組成物。

20

【請求項 6】

該吸収向上剤が界面活性剤である、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 7】

該界面活性剤が吸収性またはバイオ分解性である、請求項 6 の医薬組成物。

【請求項 8】

該界面活性剤をアシルカルニチン、ホスホリピド、胆汁酸よりなる群から選択する、請求
項 6 の医薬組成物。

【請求項 9】

該界面活性剤がラウロイル 1 - カルニチンを含む、請求項 6 の医薬組成物。

【請求項 10】

30

該ペプチドがサケ・カルシトニンを含む、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 11】

該 pH 低下剤を、0.1 M 炭酸水素ナトリウム水溶液 10 ml の pH を 5.5 以下に低下す
るのに十分な量で加える、請求項 10 の医薬組成物。

【請求項 12】

賦形剤をさらに含む、請求項 1 の医薬組成物。

【請求項 13】

該賦形剤が微結晶性セルロースを含む、請求項 12 の医薬組成物。

【請求項 14】

該 pH 低下剤がクエン酸を含む、請求項 1 の医薬組成物。

40

【請求項 15】

経口送達されたペプチドのバイオアベイラビリティを高める方法であって、
該ペプチドが、少なくとも 1 つの pH 低下剤および少なくとも 1 つの吸収向上剤とともに
、腸溶皮膜および水溶性皮膜の保護のもとに、患者の口および胃を経て該ペプチド、pH
低下剤、吸収向上剤が通過した後に患者の腸に選択的に放出されること；
なお、該腸溶性被膜は胃プロテアーゼと該ペプチドとの接触を実質的に防ぎ、そして；
該水溶性皮膜はさらに該 pH 低下剤と該腸溶性被膜との接触を実質的に防ぐものである；
を含む方法。

【請求項 16】

該 pH 低下剤が、0.1 M 炭酸水素ナトリウム水溶液 10 ml の pH を 5.5 以下に低下す

50

るのに十分な量で該医薬組成物中に存在する、請求項 15 の方法。

【請求項 17】

ペプチドの経口送達のための錠剤投与形であって、
少なくとも 1 つの薬学的に許容される pH 低下剤を含む第 1 層、および医療上有効な量の
ペプチドを含む第 2 層を有する形成層；

該ペプチドのバイオアベイラビリティの促進に有効な少なくとも 1 つの吸収向上剤；

該形成層上で形成された水溶性被膜；

該水溶性被膜上で形成された腸溶性被膜、なお、該水溶性被膜は該 pH 低下剤と該腸溶性
被膜との接触を実質的に防ぐ；

を含む投与形。

10

【請求項 18】

該ペプチドがサケ・カルシトニンを含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 19】

該 pH 低下剤が、0.1 M 炭酸水素ナトリウム水溶液 10 ml の pH を 5.5 以下に低下す
るのに十分な量で存在する、請求項 18 の投与形。

【請求項 20】

該 pH 低下剤がクエン酸を含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 21】

該吸収向上剤がラウロイル 1-カルニチンを含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 22】

20

該水溶性被膜がヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 23】

該腸溶性被膜がメタアクリル酸とメタアクリル酸塩の重合物である、請求項 17 の投与形
。

【請求項 24】

該第 1 層が崩壊剤をさらに含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 25】

該崩壊剤がクロスカルメロース・ナトリウムを含む、請求項 17 の投与形。

【請求項 26】

30

該ペプチドがサケ・カルシトニンを含み；

該 pH 低下剤が、0.1 M 炭酸水素ナトリウム水溶液 10 ml の pH を 5.5 以下に低下す
るのに十分な量で存在するクエン酸を含み；

該吸収向上剤がラウロイル 1-カルニチンを含み、

該水溶性被膜がヒドロキシプロピルメチルセルロースを含み、

該腸溶性被膜がメタアクリル酸とメチルメタアクリル酸塩の重合物を含み、

第 2 層がクロスカルメロース・ナトリウムをさらに含む、

請求項 17 の投与形。

【請求項 27】

投与形をつくる方法であって、下記の工程：

40

pH 低下剤を顆粒化して、第 1 層材料をつくること；

ペプチドおよび少なくとも 1 つの吸収向上剤を組合せて第 2 層材料をつくること；

該第 1 層材料を鋳型に加えること；

該第 2 層材料を鋳型に加えること；

該第 1 層材料および該第 2 層材料をともに圧縮して、2 層を有する形成層をつくりこと；

該形成層を水溶性被膜で被覆して、被覆された形成層をつくること；

該被覆された形成層に腸溶性被膜を適用して、錠剤をつくること、なお、該水溶性被膜は
該第 1 層と該腸溶性被膜との接触を実質的に防ぐものである；

を含む方法。

【請求項 28】

該第 2 層を鋳型に加える前に該第 1 層を部分的に圧縮する、請求項 27 の方法。

50

【請求項 29】

組合せ工程が、賦形剤を該ペプチドおよび該吸収向上剤と組合すことをさらに含む、請求項 27 の方法。

【請求項 30】

該賦形剤が微結晶性セルロースを含む、請求項 29 の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、経口ペプチド医薬投与形、経口投与されたペプチドのバイオアベイラビリティを高める方法、および本発明におけるペプチドの経口投与によるヒトでの障害の処置に有用な錠剤投与形を製造する方法に関する。 10

【背景技術】

【0002】

サケ・カルシトニンとは、骨からのカルシウムの摂取を低下するペプチドホルモンである。このホルモンは、骨関連疾患およびカルシウム障害（骨粗しょう症、パジェット病、悪性腫瘍の高カルシウム血症など）の処置に使用されたとき、骨密度を保持するのを助ける作用を有する。多くの型のカルシトニンが単離されている。ヒト・カルシトニン、サケ・カルシトニン、ウナギ・カルシトニン、エルカトニン、ブタ・カルシトニン、チキン・カルシトニンである。種々のカルシトニン型において顕著な構造的相異性が存する。例えば、ヒト・カルシトニンを形成するアミノ酸とサケ・カルシトニンを形成するアミノ酸の相 20

【0003】

先行技術で用いられるサケ・カルシトニンは、注射または経鼻投与により通常は投与されている。しかし、カルシトニン投与についてのこれらの様式は、経口投与に比して非常に不便であり、多くの患者に不快感をもたらす。この不便や不快感はしばしば治療処置において患者が実質的に服用しないことにつながる。しかし、経口投与されたときに、サケ・カルシトニンなどのペプチドの再製的血中レベルを達成する能力について、先行技術での報告は見られない。このことは、これらのペプチドが消化管で十分な安定性を欠くこと、および腸管から血液への移行が乏しいことによるとと思われる。

【0004】

胃および腸のタンパク質分解酵素が、サケ・カルシトニンを分解し、カルシトニンが血流に吸収される前に不活化する。胃のプロテアーゼ（典型的に最適の酸性 pH を有する）によるタンパク質分解変性を受けなかったサケ・カルシトニンは、後に小腸でのプロテアーゼおよび膵臓分泌の酵素（典型的に最適の中性から塩基性 pH を有する）に遭遇する。サケ・カルシトニンの経口投与から生じる問題は、分子の比較的大きいサイズおよびその有する電荷分布にある。これによって、サケ・カルシトニンが腸壁の粘膜を通過したり、腸刷毛境界膜から血中に移行するのが一層困難になる。これらの追加的な問題がサケ・カルシトニンのバイオアベイラビリティを制限するさらなる原因となり得る。 30

【0005】

Stern et al. の米国特許 5,912,014（特許 014）はサケ・カルシトニンを小腸に送達するのに治療的に有用な経口の医薬組成物を開示している。この特許によれば、腸溶被覆でサケ・カルシトニンを保護すると、胃でのサケ・カルシトニンのタンパク質分解変性などを減少できるようである。特許 014 は、錠剤形態でのサケ・カルシトニンの投与を記載しているが、一般的にペプチドを含む市販可能な投与形を開示していない。例えば、特許 014 で調製された組成物の打錠時に、いくつかの材料が機器の表面に非可逆的に付着する。さらに、典型的な一層錠は室温条件で保存されたとき、安定性に乏しい。特許 014 はまた、営業的規模での製造のための単一腸溶被覆中にペプチド、界面活性剤および pH 低下剤を併用することでおきる問題の解決について記載していない。 40

【0006】

上記のことにもかかわらず、pH 低下剤の存在でペプチドの安定性を維持する営業的に可 50

能な投与形が当技術分野で必要である。

【発明の開示】

【0007】

(発明の要旨)

ひとつの態様において、本発明は、ペプチドの経口送達のための医薬組成物を提供する。この組成物は少なくとも2層を有する形成層を含む。第1層は少なくとも1つの薬学的に許容されるpH低下剤を含む。第2層は医療上有効な量のペプチドを含む。組成物はまた、ペプチドのバイオアベイラビリティを促進するのに有効な少なくとも1つの吸収向上剤を含む。第2層にあるのが好ましい。組成物はまた、形成層の周りに腸溶性被膜を含む。

【0008】

本発明の第2態様は、経口送達されたペプチドのバイオアベイラビリティを高めるための方法を提供する。この方法は、ペプチドが少なくとも1つのpH低下剤および少なくとも1つの吸収向上剤とともに、患者の腸に選択的に放出されることを含む。この放出は、腸溶皮膜および水溶性皮膜の保護のもとに、患者の口および胃を経てペプチド、pH低下剤、吸収向上剤が通過した後になされる。腸溶性被膜は胃プロテアーゼとペプチドとの接触を実質的に防ぎ、水溶性皮膜はさらにpH低下剤と腸溶性被膜との接触を防ぐ。

【0009】

本発明の第3態様は、ペプチドの送達のための錠剤投与形およびそれをつくる方法を提供する。この投与形は、少なくとも1つの薬学的に許容されるpH低下剤を含む第1層、および医療上有効な量のペプチドを含む第2層を有する形成層を含む。この投与形はまた、ペプチドのバイオアベイラビリティの促進に有効な少なくとも1つの吸収向上剤、形成層上につくられた水溶性被膜、水溶性被膜上につくられた腸溶性被膜を含む。下記するように、水溶性皮膜はpH低下剤と腸溶性被膜との接触を実質的に防ぎ、それによってpH低下剤による腸溶性被膜の溶解阻止を実質的に防ぐ。

【0010】

投与形をつくる方法において、pH低下剤を顆粒にして、第1層材料をつくる。ペプチドおよび少なくとも1つの吸収向上剤を合わせて第2層材料をつくる。次いで、第1層材料および第2層材料で、少なくとも2層を有する形成層をつくる。この方法は、水溶性皮膜で形成層を被覆し、被膜された形成層をつくり、ついでその形成層上に腸溶性被膜をつくることを含む。

【0011】

上記の一般的な説明および下記の詳細な説明は、本発明についての例示的なものであって、制限的なものでないとして理解されるべきである。

【0012】

(発明の詳細な説明)

本発明において、カルシトニンやサケ・カルシトニンなどのペプチドでの処置を必要とする患者に、製薬産業において通常の大きさの錠剤中にペプチドを含有する経口投与形を提供する。本発明において、投与形または組成物は少なくとも2層を有する形成層を含む。本明細書で使用される用語「形成層」は、確実に結合された材料の層からなるもの、しかし層間にほとんど相互作用のないものについての通常の意味を有する。第1層は少なくとも1つの薬学的に許容されるpH低下剤を含み、第2層は医療上有効な量のペプチドを含む。組成物はまた、ペプチドのバイオアベイラビリティを促進するのに有効な少なくとも1つの吸収向上剤、および形成層の周りに腸溶性被膜を含む。組成物はカプセルまたは錠剤の形態であってよく、錠剤の形態が好ましい。この場合、水溶性被膜を形成層の上、形成層と腸溶性被膜の間に適用する。下記する理由により、ペプチドがサケ・カルシトニンであり、pH低下剤がクエン酸であるとき、ラウロイル1-カルニチンなどの吸収向上剤を第2層に組み込むのが望ましい。投与の量および回数は当技術分野で周知の方法による。

【0013】

利益を受け得る患者は、ペプチドの投与により処置可能な障害および疾患の患者である。

10

20

30

40

50

本発明は、例えば、骨粗しょう症、パジェット病、悪性腫瘍の高カルシウム血症などのペプチドで処置し得る疾患に使用し得る。

【0014】

サケ・カルシトニンが本発明における使用に好ましいペプチドである。なぜなら、このものは、広く特性が解明されており、性質が知られ、ヒト・カルシトニンに勝る多くの利点を有し、ヒト患者用の医薬として使用されているからである。ヒト骨粗しょう症の処置のためにヒト・カルシトニンの代わりにサケ・カルシトニンを用いることにより提供される利点は、大きい力価、無痛性、大きい半減期である。

【0015】

本発明の医薬組成物は、バイオアベイラビリティに対する一連の異なる非関連の天然バリアーを克服する。医薬組成物の種々の構成成分が各々に適したメカニズムによって異なるバリアーを克服するように作用して、その結果としてペプチドのバイオアベイラビリティに対する相乗的作用を得る。しかし、下記するように、ペプチド、腸溶性被膜、pH低下剤の本来の物理化学的性質は、それ以上でないが、併用されたときに、バイオアベイラビリティを強化するのに、また投与形の安定性向上に反生産的でもある。

【0016】

本発明のペプチドは、典型的には経口投与する。本発明において、胃のプロテアーゼ（大部分が酸性pH領域で活性）および腸または膵臓のプロテアーゼ（大部分が中性または塩基性pH領域で活性）によりペプチドのタンパク質分解変性が減少する。さらに、安定性が高まり、界面活性剤が腸上皮バリアーを経るペプチド活性物質の通過を助ける。

【0017】

理論に縛られるものではないが、本発明において、ペプチドとそれを変性し得る胃プロテアーゼとの接触を実質的に防ぐ腸溶皮膜などの適当な運搬体の保護の下に、ペプチドが胃を経て運ばれる。従って、投与形が胃プロテアーゼに曝露されない十分な時間、医薬組成物を被膜が実質的に保護するような腸溶性被膜についての材料および被膜の適当な厚さを選択することが望ましい。本発明の医薬組成物が胃を通過し、そして塩基性から中性のpHが支配的であり、プロテアーゼが塩基性から中性のpHを最適とする腸領域に入ると、本組成物は、ペプチドと酸を放出する（互いに接して）。

【0018】

酸が局所の腸pHを下げ、活性物質が多く、腸プロテアーゼにとっての最適領域以下のレベルに放出され则认为られる。このpHの低下は腸プロテアーゼのタンパク質分解活性を減少し、起こり得る変性からペプチドを保護する。換言すると、これらのプロテアーゼの活性がpH低下剤による一時的な酸性環境でもって減少する。好ましくは、局所腸pHが5.5以下、特に約4.0と5.5との範囲に一時的に低下するように十分な酸を供給する。下記するような（および米国特許5,912,014（出典明示により本明細書の一部とする））炭酸水素ナトリウム塩試験が必要な酸の量の指標になる。好ましくは、低下した腸pHの条件が、タンパク質変性からペプチド物質を保護するのに十分な時間、ペプチド物質の少なくともいくらか（好ましくは、大部分またはすべて）が腸壁から血流に通る機会を有するまで、持続する。

【0019】

吸収向上剤は、溶解性向上剤および/または運送向上剤であって（特許014に記載のように）、ペプチド物質の腸から血液への運送を助け、運送が腸pHの低下および腸タンパク質分解活性の低下の期間によく生じるように、プロセスの速度を速める。多くの界面活性剤が溶解性向上剤および摂取向上剤の両方として作用し得る。さらに、理論に縛られる意図でないが、溶解性の向上が（1）本発明活性成分の腸の水性部分へのいっそうの同時的放出、（2）腸壁の粘膜層でのペプチドの優れた溶解性およびそれを経る運送を提供すると考えられる。ペプチドが腸壁に達すると、摂取向上剤が腸の刷毛境界膜から血液へのよりよい輸送を、細胞または周辺通過で提供する。さらに詳しく下記するように、多くの好ましい化合物は両機能を提供し得る。この場合、両機能を用いる好ましい実施態様は、わずか1つの追加構成成分を医薬組成物に加えることにより、両機能を提供できる。なお

、吸収向上剤が両機能をかならずしも提供しなければならないわけでない。注意すべきは、本明細書での用語「吸収向上剤」が溶解性向上剤あるいは運送向上剤、またはその両方として機能し得ることである。特に、ラウロイル 1-カルニチンに関して、この吸収向上剤は少なくとも溶解性向上剤として機能するようである。

【0020】

本発明の医薬組成物の好ましい成分の各々を別個に下記で説明する。複数の pH 低下剤または界面活性剤の組合せを、単一の pH 低下剤または界面活性剤を用いるのと同様に使用できる。いくつかの好ましい組合せを下記する。

【0021】

ペプチド

ペプチドは市販されている典型的な投与形で医療上有効な量で存在する。その厳密な量は、使用するペプチド、溶解性、処置される疾患または病状、バイオアベイラビリティ、さらには当技術分野で周知の多くの他の因子によって変る。ペプチドがサケ・カルシトニンであるとき、ペプチドが全医薬組成物（被膜は除く）の全重量に比して約 0.02 – 0.2 重量%の量で存在し得ることが分かった。カルシトニンが本発明で使用する典型的なペプチドであり、サケ・カルシトニンが好ましいが、本発明で使用される他のペプチドは特許 014 に記載のペプチドを含む。

【0022】

ペプチド前駆体を公知の化学的または組換えの合成法によりつくり得る。しかし、後者が非常に費用効率的である。組換えサケ・カルシトニン (r s C T) は、例えば、グリシン伸長サケ・カルシトニンを大腸菌中でグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの溶解性融合タンパク質として、特許 014 に記載のように、つくり得る。

【0023】

pH 低下剤

ペプチドの毎投与とともに投与される pH 低下剤の全量は、放出されたときに腸の局所領域に存在するプロテアーゼの最適 pH 以下に局所腸 pH を実質的に低下するのに十分な量であることが好ましい。必要とする量は、使用される化合物のタイプおよび実施において化合物により提供されるプロトンの均等物を含むいくつかの因子により必然的に変り得る。投与されたペプチドの優れたバイオアベイラビリティを提供するのに要する典型的な量は、0.1 M 炭酸水素ナトリウム 10 ml の溶液に加えたときに、その炭酸水素ナトリウム水溶液の pH を 5.5 以下に、好ましくは 4.0 – 5.5 に低下する量である。

【0024】

本発明の pH 低下剤は、消化管において毒性がなく、水素イオンを放出し得るか（移行性の酸）または局所環境から高い水素イオンを誘導し得るような、薬学的に許容される塩であり得る。またこのような化合物のいかなる組合せでもあり得る。化合物の例は、特許 014 に記載のように周知である。本発明において、クエン酸が好ましい。

【0025】

吸収向上剤

1 以上の吸収向上剤（本明細書で界面活性剤ともいう）が、ペプチドのバイオアベイラビリティを促進するのになんらかの改善を示す量で好ましくは存在する。典型的には、この量は医薬組成物（腸溶性被膜は除く）の全重量に比して約 0.1 – 20.0 重量%を構成する。好ましい吸収向上剤は、溶解性向上剤あるいは摂取向上剤またはその両方として作用する界面活性剤である。上記したように、「溶解性向上剤」は、本発明の活性構成成分が最初に放出された水性環境に溶解するか、腸壁を形成する粘膜層の親油性環境に溶解するか、またはその両方についての能力を改善する。「摂取向上剤」（しばしば、溶解性向上剤として使用されるのと同じ界面活性剤である）は、ペプチド物質が腸壁を通過するのを容易にするものである。

【0026】

本発明の範囲内において、1 以上の吸収向上剤はひとつの機能のみをなし得るか（例えば、溶解性）、または 1 以上の吸収向上剤は他の機能のみを発揮し得る。いくつかの化合物

10

20

30

40

50

の混合物であることも可能であり、米国特許 5,912,014 に記載のように、そのある物は溶解性を改善し、ある物は摂取を改善し、および/または、ある物は両方を改善する。理論に縛られる意図でないが、摂取向上剤は、(1) 腸壁外膜の疎水性領域の乱雑を増加し、細胞通過の輸送を行うこと、(2) 膜タンパク質のろ過により細胞通過の輸送を増加すること、または(3) 細胞周辺の輸送増加のための細胞間のポア間隔を広げることにより作用し得ると考えられる。

【0027】

界面活性剤を吸収向上剤として使用するとき、この物は混合を容易にするために自由に流動し得る粉末であることが好ましい。しかし、ペプチドの本来の特性(例えば、等電点、分子量、アミノ酸組成など)からして、ある種の界面活性剤が好ましい。実際、ある物はペプチドの電荷部分と相互作用して、その吸収を妨げて、バイオアベイラビリティの低下という望ましくない結果をもたらすことがある。どのような界面活性剤がペプチドのバイオアベイラビリティを増加するのに最も適しているかを定めることは当業者の知るところである。例えば、ペプチドがサケ・カルシトニンを含むとき、吸収向上剤として使用される界面活性剤は、下記よりなる群から選択できる：(i) コレステロール誘導体であるアニオン界面活性剤(例えば、胆汁酸)、(ii) カチオン界面活性剤(例えば、アシルカルニチン、ホスホリピドなど)、(iii) 非イオン界面活性剤、(iv) アニオン界面活性剤(特に直線状炭化水素領域を有するもの)のサケ・カルシトニンについての負電荷中和剤との混合物。

10

【0028】

ペプチドがサケ・カルシトニンであるとき、負電荷中和剤は、限定でないが、アシルカルニチン、塩化セシルピリジニウムなどを含む。好ましくは、電荷中和剤はラウロイル 1-カルニチンである。吸収向上剤が酸性 pH、特に pH = 3.0 ~ 5.0 の範囲で溶性であることが好ましい。単一の吸収向上剤のみを用いるとき、カチオン界面活性剤が好ましい。これは、ペプチドの血中への吸収を妨害するようなペプチドとの相互作用を避けるのがその意図である。

20

【0029】

他の選択的成分

本発明のすべての医薬組成物は、ポビドンなどの通常の医薬結合剤、稀釈剤、滑剤、微結晶性セルロース、ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤、クロスカルメロース・ナトリウムなどの崩壊剤、保存剤、色素などを通常の大きさおよび量で選択的に含み得る。ある実施態様において、腸プロテアーゼの基質として作用し得るペプチドを加える(好ましくは、全医薬組成物(腸溶性被膜を除く)の重量に比して 0.2 ~ 10.0%)。

30

【0030】

腸溶性被膜

胃プロテアーゼからペプチドを保護し、本発明の活性構成成分を腸に放出するすべての腸溶性被膜が適している。腸溶性被膜は、胃などの低い pH 環境で溶解しない被膜を提供することにより機能する。多くの腸溶性被膜は当技術分野で知られており、本発明において有用である。例として、酢酸フタル酸セルロース、コハク酸ヒドロキシプロピルメチルエチルセルロース、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルエチルセルロース、酢酸フタル酸ポリビニル、メタアクリル酸-メチルメタアクリル酸共重合物がある。

40

【0031】

すべての活性構成成分が投与形から放出され、できるだけ同時に腸内環境で溶解されることが非常に望ましい。好ましくは、投与形が小腸中に活性構成成分を放出する。このために、腸溶性被膜材料を使用するのが望ましい。好ましくは、腸溶性被膜は医薬組成物の残留物(腸溶性被膜を除く)重量の 20% を越えない。さらに好ましくは、非被膜組成物重量の 3 ~ 15% である。

【0032】

水溶性被膜

pH 低下剤と腸溶性被膜との接触を実質的に防ぐいかなる水溶性被膜も適当である。多く

50

の水溶性被膜が当技術分野で知られており、本発明において有用である。例として、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロースがある。

【0033】

上記のように、すべての活性構成成分が投与形から放出され、できるだけ同時に腸内環境で溶解されることが非常に望ましい。しかし、pH低下剤は、局所のpHを下げることで、腸溶性被膜の分解を通常は阻止する。この問題を解決するために、本発明のひとつの実施態様において、投与形と腸溶性被膜との間に位置する水溶性被膜を準備する。この被膜によって、投与形と腸溶性被膜との接触を実質的に防止する。

【0034】

好ましくは、腸溶性被膜は医薬組成物の残留物（水溶性腸溶性被膜を除く）の20重量%を越えない。典型的には、非被膜組成物の0.5～15重量%である。さらに好ましくは、非被膜組成物の0.5～5重量%である。

【0035】

投与形およびその製造

本発明の投与形は、少なくとも2層の形成層をもつ錠剤を典型的に含む。第1層の主要成分は典型的に上記のようなpH低下剤である。第2層の主要成分は典型的にペプチドであり、選択的に吸収向上剤である。上記のように組合せたときに、構成物は少なくとも2層を有する錠剤を形成する。製造が比較的容易なことから2層錠が好ましいが、第2層が実質的にペプチドからなり、第3層が界面活性剤を含むような3以上の層を有することも可能である。

【0036】

第1層は、第1層材料を形成する少なくとも1つのpH低下剤を顆粒にして製造する。クエン酸が好ましいpH低下剤であるが、クエン酸単独では必要な圧縮性を発揮しない。従って、顆粒化の際または後に、他の物質をpH低下剤に加えて、機械的な性質を改善できる。具体的には、流動性基底における顆粒化の際に、微結晶性セルロースなどの充填剤およびポビドン結合剤を、当技術分野で周知の量で加え得る。ついで、得た顆粒を乾燥し、当業者に周知の方法でミルで適当なサイズとする。さらに、上記のように、滑剤および滑沢剤と組み合わせて顆粒の圧縮性および流動性を改善して、第1層をつくる。

【0037】

第2層材料は、ペプチドと少なくとも1つの吸収向上剤（すなわち、界面活性剤）を組合せてつくる。第2層も流動基底でつくることのできる。ペプチドが少量で比較的高い活性を表すので、ペプチドとポビドンなどの結合剤を界面活性剤または少なくとも1つの賦形剤と界面活性剤の上に噴霧して、第2層をつくる。上記のように、本発明において、界面活性剤は典型的にアシルカルニチンであって、ラウロイル 1-カルニチンが好ましい。選択的な賦形剤は、微結晶性セルロースなどの充填剤を、当業者に理解されるように、層間の適当な接着を提供するのに十分な量で典型的に含む。得られた顆粒を乾燥し、当業者に周知の方法で適当なサイズにする。最後に顆粒を混合機に移す。そこで、顆粒をクロスカルメロースなどの崩壊剤または1以上の他の崩壊剤と選択的に混合する。崩壊剤の量は顆粒の約10.0重量%までであり、約2.0重量%が好ましい。崩壊剤のないのは選択的であるが、ペプチドのバイオアベイラビリティが弱まることがある。ペプチドの完全な放出がpH低下剤と同じ時に起こり得ないからである。

【0038】

ステアリン酸マグネシウムやステアリン酸などの他の滑沢剤および接着剤、およびコロイド状二酸化ケイ素やポビドンなどの他の賦形剤を加えて、当技術分野で知られている方法で、第2層材料の性質を改善できる。

【0039】

ついで、一部の第1層材料を標準的な二層打錠機に移し鋳型に充填する。第1層材料を部分的に圧縮して第1層をつくる。部分的圧縮は、第2層材料を鋳型に加えるときに、第1層材料と第2層材料との実質的な混合を防ぐために必要である。第1層材料の部分的圧縮

10

20

30

40

50

に続き、第2層材料を第1層含有の鋳型に加える。ついで、第1および第2層材料を一緒に圧縮して、2層をもつ錠剤をつくる。

【0040】

典型的には、第1層材料は最終錠剤の全重量の約50～90%を占める。好ましくは、第1層材料は最終錠剤の全重量の約70%を占める。典型的には、第2層材料は最終錠剤の全重量の約50～10%を占める。好ましくは、第2層材料は最終錠剤の全重量の約30%を占める。

【0041】

第1層材料を層中に前もって部分的に圧縮してあるので、第2層材料と第1層材料との実質的な混合を回避できる。本発明の2層構造がpH低下剤とペプチドおよび界面活性剤との接触を実質的に防ぐ。具体的には、2層間で、0.1%以下のペプチドがpH低下剤と典型的には接触する。 10

【0042】

錠剤を打錠機から移し、2層錠芯を上記の組成物を有する水溶性被膜またはシール被膜で被覆する。被覆は当技術分野で知られている方法で行う。上記のように、水溶性被膜がpH低下剤と適用の腸溶性被膜との接触を実質的に防止する。

【0043】

水溶性被膜を乾燥した後、錠剤に腸溶性被膜を被覆する。上記のように、腸溶性被膜は、酸性条件（低pH）で溶解しないので、腸溶性被膜が胃の酸性状態で錠剤の溶解を実質的に防ぎ、錠中のペプチドを胃中に存在する種々のプロテアーゼおよび消化酵素から保護する。被覆された錠剤が小腸（高い局所pHを有する）に入ると、腸溶性被膜が溶解する。しかし、本発明において、腸溶性被膜とpH低下剤との間に位置する別個の被膜がないと、pH低下剤が腸溶性被膜の溶解を、pH低下剤による低局所pHでもって阻止することが分かった。このように、腸溶性被膜を効率的に溶解し、活性物質の放出の遅延を防ぐために、本発明のひとつの実施態様では、腸溶性被膜の前に水溶性被膜でもって錠剤を被覆する。従って、腸溶性被膜が錠剤中に存在するpH低下剤による阻害なしに容易に溶解できる。 20

【0044】

下記の実施例は、本発明の代表的なものであり、限定的なものでない。

【実施例1】

【0045】

表1は、本発明の典型的な実施態様についての例示的な記述である。第1層pH低下剤顆粒をGPCG-5流体基底ユニット（Glatt Air Techniques, Inc. 製）でもって処理した。さらに、第2層ペプチド／界面活性剤顆粒をGPCG-3流体基底ユニット（Glatt Air Techniques, Inc. 製）でもって処理した。サイズ00スクリーン装着の市販Fitzmillを用い高速のハンマー・フォワード・モードで、顆粒化の前に界面活性剤を粉にした。水は処理のためにのみ存在し、錠への圧縮の前に蒸発せしめた。

【0046】

表1：第1および第2層の典型的な顆粒／混合物の組成

【表1】

10

20

30

40

第 1 層成分	Mg/ 錠剤	バッチ量 (g)	第 2 層成分	mg/ 錠剤	バッチ量 (g)
<u>pH 低下剤顆粒</u>			<u>ペプチド／界面活性剤顆粒</u>		
ポビドン、USP	25.0	350	サケ・カルシトニン、 ペプチド	0.2	2.00
精製水、USP	-	1750	ポビドン、USP	11.0	110
クエン酸末	500.0	7000	精製水、USP	-	550
微結晶セルロース	50.0	700	マイクロカルボナール粉砕	50.0	500
			微結晶セルロース	158.8	1588
全顆粒	575.0	8050	全顆粒	220.0	2200
<u>pH 低下剤最終混合物</u>			<u>ペプチド／界面活性剤最終混合物</u>		
微結晶セルロース	65.3	915	二酸化ケイ素	2.2	22
タルク	6.5	91	ステアリン酸	2.2	22
ステアリン酸マグネシウム	6.5	91			
全混合物	653.3	9147	全混合物	224.4	2244

10

20

30

40

50

【0047】

サケ・カルシトニン／結合物質溶液を界面活性剤および賦形剤に適用する際に、顆粒のサイズが徐々に大きくなる。しかし、これらの顆粒は乾燥中に小さい粒子に碎けて、中程度の流動性をもつ材料となることを認めた。

【0048】

ポビドン結合剤溶液をクエン酸と微結晶性セルロースとの流体基底上に噴霧して、クエン酸を顆粒にした。得られる乾燥材料は高度に顆粒化され、塊がなく流動性である。表 1 の下部の「最終混合」成分は、最初の顆粒化、乾燥、粉化の後に各々の顆粒に加えたものである。

【0049】

2 層錠を Key BBC-4 2 層打錠機 (Key International, Inc., Englishtown, New Jersey 市販) でもって打錠した。クエン酸混合物を第 1 層として使用し、打錠機の鑄型にまず入れ、ついで部分的に圧縮した。部分的圧縮の後にサケ・カルシトニンと界面活性剤の顆粒を鑄型に加え、両層と一緒に圧縮して層化された錠剤を作った。比較例として、単層錠剤の溶解性試験を行った。ここでは、ペプチド、界面活性剤、pH 低下剤を単一層に組合せた。表 3 に示す。

【0050】

表 1 記載の材料から製造された錠剤の相対的溶解性を調べるために、表に示す組成を有する錠剤を 2 つの 1 g 乾燥剤円筒とともに誘導密封 90 cc HDPE 瓶に入れた。溶解性試験の結果を表 2 に示す。表 2 において、高圧液体クロマトグラフィーを用いて、%LD (ラベル・クレーム) を 3 錠の平均値として決定した。従って、最初の %LC を投与形中に存在するペプチドの量に関し、続く測定のベースラインとしてのみ使用した。「回収 %」を最終 %LC ÷ 最初 %LC × 100 で計算した。% 表示の「保存条件」を相対湿度 (RH) % として記載する。

【0051】

表 2 : 上記の 2 層打錠により製造されたサケ・カルシトニン (ペプチド) 0.2 mg 2 層腸溶被覆錠剤の 3 か月の回収

【表 2】

安定化法 (一般的記載)	最初、 % LC	保存条件	最終、 % LC	回収%
第1層: ペプチド/界面活性剤顆粒	104.8	4°C	102.2	97.5
		25°C/60%	96.5	92.1
第2層: pH低下剤顆粒		30°C/60%	93.2	88.9
		40°C/75%	75.2	71.8

10

【0052】

表3記載の錠剤は、表1に表示と類似の材料を用いて Manestry Beta Press で製造した。各錠はペプチド約2mg、pH低下剤約500mg、界面活性剤約50mgを含有する。最後の例において、各錠は微結晶性セルロース約100mgも含有する。構成成分を表3記載の方法で組み合わせて単層錠をつくる。

【0053】

表3：単層腸溶性被膜錠中のサケ・カルシトニンペプチドの保存3か月後の安定性について異なる安定化法の評価

20

【表 3】

安定化法 (一般的記載)	最初、 % LC	保存条件	最終、 % LC	回収%
対照の単層	92.2	4°C	93.1	101.0
サケ・カルシトニン/ ラウロイル 1- カルニチン /クエン酸顆粒		25°C/60%	75.7	82.1
サケ・カルシトニン/クエン酸顆粒、pH3.5、 ラウロイル 1- カルニチンと混合	88.4	4°C	89.8	101.6
		25°C/60%	59.7	67.5
		40°C/75%	12.4	14.0
サケ・カルシトニン/クエン酸顆粒 ラウロイル 1- カルニチンと混合	91.0	4°C	95.4	104.8
		25°C/60%	70.5	77.5
		40°C/75%	20.9	23.0
サケ・カルシトニン/ 微結晶セルロース顆粒、 ラウロイル 1- カルニチンおよび クエン酸顆粒と混合	96.7	4°C	94.5	97.7
		25°C/60%	80.8	83.6
		40°C/75%	44.0	45.5

30

40

【0054】

表2と3のデータを比較すると、多層錠においてペプチドをpH低下剤と分離することにより、ペプチドの在庫可能期間が有意に増加するのがわかる。例えば、表2に示すように、40°Cおよび75%相対湿度で、71.8%のペプチドを2層錠から3か月後に回収した。しかし、単層錠については、表3に示すように、40°Cおよび75%相対湿度で、安定化法に応じて14%、23%、45%のペプチドしか3か月後に回収し得なかった。

50

【0055】

次の実施例において、一連の2層錠を強度範囲0.05～0.5mgで製造し、1セットの分析に供した。表4は、サケ・カルシトニン0.5mg 2層腸溶錠の正確な組成を示す。ステアリン酸マグネシウムが好ましいが、表4に示すように、ステアリン酸を第2層に使用した。医薬活性成分が他の成分に比して少量存在するので、結合液中のサケ・カルシトニンの比較的少量を溶解することで、他の成分の量を保持しながら、すべての低い錠剤強度をつくった。Key B B C - 4回転圧を用いて、表5に揚げるガイドに従って、最終混合物を楕円形の無地表面2層錠(0.720 x 0.365 x 0.052)に打錠した。次いで錠芯をシールし、腸溶性被膜を施した。

【0056】

表4：サケ・カルシトニン0.5mg 2層腸溶錠の組成

【表4】

番号	% w/w	成分	1000錠当たりの処方	
第1層				
1	50.01	クエン酸、USP/EP、無水末	500.0 g	
2	5.00	微結晶セルロース、NF/EP	50.0 g	
3	2.50	ポビドン、USP/EP	25.0 g	
4	q.s.	精製水 USP	q.s. ¹	
5	6.53	微結晶セルロース、NF/EP	65.3 g	
6	0.65	タルク、UPS (400)	6.5 g	
7	0.65	ステアリン酸マグネシウム (非 ポビン)	6.5 g	10
	65.34	第1層全重量	653.3g	
第2層				
8	0.05	サケ・カルシトニン	0.5 mg	
9	15.85	微結晶セルロース、NF/EP	158.5 g	
10	5.00	粉碎塩酸ラウロイル 1-カルニチン	50.0 g	
11	1.10	ポビドン、USP/EP	11.0 g	
12	q.s.	精製水 USP	q.s. ¹	
13	0.46	クロスカルメロース・ナトリウム	4.6 g	
14	0.23	無水二酸化ケイ素、コロイド状、NF/EP	2.3 g	20
15	0.25	ステアリン酸末、NF、3回圧縮	2.3 g	
	88.26	第2層全重量	229.2 g	
		錠芯全重量	882.5 g	
16	2.65	ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよび ポリエチレングリコール (Opadry(登録商標) Clear)	26.5 g	
17	q.s.	精製水 USP/EP	q.s. ¹	
	90.90	被膜錠全重量	909.0 g	
18	6.99	メタアクリル酸およびメタアクリル酸塩 の重合体 (Eudragit L30D)	69.9 ² g	30
19	0.70	タルク、USP (400)	7.0 g	
20	1.40	クエン酸トリエチル、NF	14.0 g	
21	q.s.	精製水 USP/EP	q.s. ¹	
	100.00	腸溶被膜錠全重量	999.9 g	

¹ 最終産物には表れない。

² 30%水性分散として使用可能；ポリマー固体含量として処方を挙げる。

【0057】

表5：サケ・カルシトニン0.5mg 2層腸溶錠の打錠に用いられたガイド

【表5】

	目標	操作限界			警報限界		
		±%	低	高	±%	低	高
10第1層錠の重量 (g)	6.53	5	6.20	6.86	8	6.01	7.05
10第2層錠の重量 (g)	2.29	5	2.18	2.40	8	2.11	2.47
10第3層錠の重量 (g)	8.82	5	8.38	9.26	8	8.11	9.53
堅牢度 (kP)	20	N/A	16	24	N/A	N/A	N/A

【0058】

活性医薬成分を錠剤中に非常に低レベルで組み込む。従って、錠含量の均一性に問題があるかも知れない。このために、方法の初期段階において、トップ噴霧流動基底方法がポリペプチドを多量の賦形剤に均質に分布するのに最上の手段であると結論した。表6は、サケ・カルシトニン0.05、0.1、0.2、0.5 mgの2層腸溶性被膜錠についての均質的含量均一性、溶解、安定性を示す。

【0059】

表6：サケ・カルシトニン（ペプチド）2層腸溶性被膜錠についての含量均一性、溶解、安定性

【表6】

ペプチド 強度	含量均一性 ¹		ペプチド溶解 プロファイル, % ²	最初 %LC ⁴	安定性 ³		
	ペプチド %LC	ラウロイル-L-カルニチン %LC			保存条件	3ヶ月 %LC	6ヶ月 %LC
0.5 mg	102.5 RSD=1.0	98.5 RSD=0.9	酸性段階: 0% ³	103.6	4°C	105.4	106.2
			緩衝段階:		25°C/60%	98.2	96.1
			15分: 0		30°C/60%	98.4	89.2
			30分: 0		40°C/75%	63.6	-
			45分: 25 (19-43)				
			60分: 91 (61-101)				
0.1 mg	108.3 RSD=1.4	99.0 RSD=1.6	酸性段階: 0%	105.2	4°C	-	-
			緩衝段階:		25°C/60%	-	-
			15分: 0		30°C/60%	-	-
			30分: 2 (0-7)		40°C/75%	-	-
			45分: 23 (11-46)				
			60分: 71 (46-111)				
0.2 mg	99.6 RSD=1.3	95.4 RSD=1.3	酸性段階: 0%	108.7	4°C	105.5	105.6
			緩衝段階:		25°C/60%	102.1	95.0
			15分: 0		30°C/60%	97.8	85.2
			30分: 5 (2-8)		40°C/75%	68.3	-
			45分: 31 (19-42)				
			60分: 79 (53-94)				
0.5 mg			酸性段階: 0%	101.8	4°C	98.1	95.9
			緩衝段階:		25°C/60%	93.2	85.8
			15分: 0		30°C/60%	87.4	74.1
			30分: 37 (1-84)		40°C/75%	42.6	-
			45分: 86 (82-89)				
			60分: 85 (82-87)				

【0060】

¹ 10錠を用いてサケ・カルシトニンおよびラウロイル-L-カルニチンの平均含量均一性および%RSDを決定した。

10

20

30

40

50

²・溶解結果は6錠の平均および範囲を示す。

³・30錠を2つの1g乾燥剤円筒とともに誘発密封90ccHDPE瓶に入れた。安定性は3錠の平均値の結果である。

⁴・最終%LC+最初LCに従い計算した。

⁵・腸溶性被膜錠の酸性段階の溶解を緩衝段階の120分前に試験した。

註：すべてのサンプルをHPLCで試験した。0.05、0.1、0.2mg錠についての安定性試験は、内容単一性および溶解データを得るのに使用したバッチと異なるバッチに由来する。

【0061】

最終錠剤のアッセイによると、すべての強度がサケ・カルシトニンおよびラウロイル 1-カルニチンの両者について優れた含量均一性を有し、米国薬局方の含量均一性基準（全錠がLCの85%–115%、 $RS D \leq 6\%$ ）に合格する。個々の試験錠剤のほとんどすべてがラベルクレーム値の5%内にあり、いずれの錠剤もLCから7%を越えて異ならなかった。さらに、錠剤の相対標準偏差は範囲が0.9~1.6%で小さかった。溶解検査において試験錠剤のいずれの酸性媒質に活性医薬成分を検出しなかった。これは、すべての錠剤用量が腸溶性被膜錠についての米国薬局方溶解要件を満足することを表す。表6に示すように、腸溶膜はサケ・カルシトニンの溶解を緩衝液中で少なくとも15分間遅らす。その後60–75分を、坦持された錠剤の75%以上の溶解に必要とする。3強度の安定結果によると、活性医薬成分の最初量の90%以上を室温保存3月後に回収できた。さらに、わずかに15%を越える薬剤しか0.5mg錠から室温での保存6か月後に認められなかった。これらのデータから、室温保存の安定性はおそらく3から6か月であろう。6か月間の冷蔵庫での保存サンプルについての分析によると、サケ・カルシトニン錠の長期間保存に5℃が必要条件であろう。

【0062】

次のサンプルで、サケ・カルシトニン0.5mgの2層腸溶性被膜錠の臨床バッチを、表4を用いて製造した。この試験で第1層および第2層の顆粒をGP GC-5液体床処理機で調製した。乾燥顆粒をComil (Quadro Engineering, Inc., Ontario, Canada)で砕き、顆粒を砕かれた顆粒外賦形剤と24リットルMatcon Buls bin混合機で別個に混合した。Key BBC-4 2層回転圧縮機を用いて、最終混合物を楕円形の無被覆2層錠（0.720 x 0.365 x 0.052）に打錠した。表5に記載の指針による。粉碎強度を打錠後すぐに硬度テスターで測定した。錠芯を密封被覆し、24" Accella-Cota 機で腸溶性被膜を施した。

【0063】

サケ・カルシトニン0.5mg臨床用バッチを、オープンラベル、単一用量、無作為、3処置フェーズ交差設計（Hammersmith II 試験）を採用する単一センター試験で検査した。全16人の健常ボランティア、男性8人および女性8人が薬物試験に参加した。各対象者が試験錠の経口投与を受け、別時にポジティブ対照として吸入カルシトニン処方1投与（0.04mg）を受けた。対象者は投与日の前夜から絶食したが、水は自由に飲むことが許されていた。各経口フェーズについて、血液サンプルを投与前および投与後30分毎に300分まで採取した。7日の洗い出し期間を次の処置フェーズまでの間に設けた。血漿カルシトニン濃度をPPD Pharmoco, Richmond, Virginiaにより測定した。臨床試験用証拠からの試験結果の解析で、典型的な2層製剤がサケ・カルシトニンポリペプチドの経口吸収を促進するのに有効であることを確認した。サケ・カルシトニンの定量的レベルを経口投与形の投与後に大部分（80%以上）の対象者の血漿で検出できた。一般的に、薬力学パラメーターは大きい対象者間の差異を示した。経口錠投与の平均 C_{max} 値は範囲0–800で $167 \pm 218 \text{ pg/ml}$ であった。Tは応答を示す対象者において範囲が135–360分であり、平均値が 216 ± 70 であった。非常に対照的に、吸入投与を受けた対象者の19%未満が検出可能な血液レベルであった。

【0064】

次の実施例で、プラセボおよび活性サケ・カルシトニン0.1mg 2層腸溶性被膜錠のパ

イロット的規模拡大バッチを調製し、完全な製造法に問題がないかを調べ、規模拡大での製造条件を定め、この方法の製造部署への移行の助けとした。錠剤の調製を、表4に表示の一般処方の使用で0.5mgよりも0.1mgで行い、あるいはプラセボバッチの場合に非活性医薬成分で行った。

【0065】

第1層および第2層の顆粒を、表7に記載の製造条件で、GPGC-60液体床製造機およびトップ噴霧形態で製造した。

【0066】

表7. クエン酸およびサケ・カルシトニン／ラウロイル 1-カルニチンの顆粒のパイロット的規模での製造に用いられた方法条件、Glatt Air Techniques, Inc. 製のGPGC-60液体床製造機を使用

【表7】

第1層 (クエン酸) 顆粒化パラメーター、 GPGC-60 (2x65kgバッチ)		第2層 (サケ・カルシトニン／ラウロイル 1-カルニチン) 顆粒化パラメーター、GPGC-60 (1x48kgバッチ)	
入口温度	45-55°C	入口温度	35-55°C
産物温度 (噴霧前)	25-50°C	産物温度 (噴霧前)	25-40°C
産物温度 (噴霧時)	27-40°C	産物温度 (噴霧時)	20-30°C
産物温度 (乾燥時)	27-48°C	産物温度 (乾燥時)	20-40°C
排出物温度 (噴霧時)	27-45°C	排出物温度 (噴霧時)	20-35°C
噴霧空気 (bar)	1.8-2.2	噴霧空気 (bar)	1.8-2.2
噴霧速度 (ml/分)	300-500	噴霧速度 (ml/分)	200-500
流動空気量	産物流動化保持 のために変わる	流動空気量	産物流動化保持 のために変わる
噴霧ガン: 1.5mmノズル、 3ヘッド、中間口		噴霧ガン: 1.5mmノズル、 3ヘッド、底面口	

【0067】

クエン酸顆粒の2サブロット (各65kgバッチ) およびサケ・カルシトニン／界面活性剤顆粒の1ロット (48kgバッチ) を調製した。クエン酸の各サブロットは同じ条件で顆粒化した。すなわち、ポビドン結合剤溶液をクエン酸および微結晶性セルロースの液体床上に噴霧し、ついで湿気含量1w/w%以下に乾燥した。クエン酸顆粒は高度に顆粒化されており、基本的に塊がなく、流動性である。サケ・カルシトニン／界面活性剤顆粒の調製は、ポビドンおよびサケ・カルシトニンの溶液を微結晶性セルロースおよびラウロイル 1-カルニチンの床上に適用して行い、ついで顆粒をチェンバー内で湿気含量1w/w%以下に乾燥した。得られた調製物は中程度の流動性を有する細かい物であった。3顆粒の粒子サイズ分布密度を表8に示す。

【0068】

表8. パイロット的規模のGPGC-60で製造された第1および第2層の顆粒の粒子サイズ分布および密度

10

20

30

40

50

【表 8】

第1層顆粒 :	スクリーンサイズ						
	20	40	60	80	100	140	PAN
(CA)							
保持重量%、サブロット 1	0.7	14.1	54.1	20.8	3.6	4.4	2.1
保持重量%、サブロット 2	1.9	9.8	38.3	20.7	6.1	9.1	14.0
密度、サブロット 1: 解放 - 0.43; 捕捉 - 0.60							
密度、サブロット 2: 解放 - 0.47; 捕捉 - 0.80							
第2層顆粒 :	スクリーンサイズ						
	20	40	60	80	100	140	PAN
(サ・カルボン/ラクト 1-カルボン)							
保持重量%	1.6	1.7	1.4	2.9	2.9	9.5	80.0
密度 : 解放 - 0.40 ; 捕捉 - 0.60							

10

【0069】

すべての顆粒が、500PPMでセットされ、サイズ 2F094R037/41 スクリーンを備える Comil (Quadro Engineering, Inc., Ontario, Canada)を通過した。両クエン酸顆粒を、5分間15RPMで1工程で塊のない顆粒外賦形剤とともに500Lの Matcon Buls Bin 混合機で混合した。その後、ステアリン酸滑沢剤を混合物に加え、さらに3分間混合を続けた。すべての混合物は取り出す際に bin から円滑に流れ出た。

20

【0070】

Key BBC-4 2層回転圧縮機を用いて、最終混合物を楕円形の無被覆2層錠(0.720x0.365x0.052)に打錠した。表5に記載の指針による。圧縮を35ステーションで完全にし、18RPMで行った。粉碎強度を打錠後すぐに硬度テスターで測定した。個々の層重量は全圧縮操作を通じて一定であった。粘着の問題を、2層処方の長時間圧縮後で認めなかった。

【0071】

錠芯の脆碎性検査により、錠剤がチップングおよび/または2層への欠損をほとんど起こさなかった(4分間の回転後で0.01%脆碎性)。錠芯を密封被覆し、24" Accella-Cota 機で腸溶性被膜を施した。最終の腸溶性被膜錠は視覚的に合格した。

30

【0072】

すべての錠芯を被覆レベル3w/w%のヒドロキシプロピルメチルセルロース被膜系で密封被覆した。ついで100部の固形ポリマー、20部のクエン酸トリエチル、10部のタルク(全20w/w%固体含量)を含量する Eudragit L30D を基にする(メタアクリル酸およびメタアクリル酸塩ポリマー)腸溶性被膜分散液で、標的被覆レベル10w/w%で腸溶被覆した。被覆操作を、被覆しようとする錠芯の量によって次のいずれかを用い行った。Freund Hi-Coater Model HCT-30, Vector Corp., Marion, IA USA (<1kg錠芯)、24" Accela-Cota, Thomas Engineering, Inc., Hoffman Estates, IL, IA USA (<6kg錠芯)、48" Accela-Cota (>90kg錠芯)。

【0073】

いくつかの具体的な実施態様および実施例を参照して本発明を説明および記述したが、本発明はこのような詳細説明に限定されるべきものではない。むしろ、特許請求の範囲は、その範囲および均等域内に、本発明の精神を逸脱しない限り、種々の修飾を含むと解されるべきものである。

40

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072075 A1

- (51) International Patent Classification: A61K 9/24, 9/32, 9/36
- (21) International Application Number: PCT/US02/07197
- (22) International Filing Date: 8 March 2002 (08.03.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/274,317 8 March 2001 (08.03.2001) US
- (71) Applicant: UNIGENE LABORATORIES INC. [US/US], 110 Little Falls Road, Fairfield, NJ 07004 (US).
- (72) Inventors: CROTTIS, George; 2418 Gallows Hill Road, Kintnersville, PA 18930 (US). GHEBRE-SELLASSIE, Isaac; 21 Meadow Bluff Road, Morris Plains, NJ 07950 (US). SHETH, Ashlesh; 14 Crest Drive, Randolph, NJ 07869 (US).
- (74) Agents: GRAY, III, William, O. et al.; Ostrolenk, Faber, Gerb & Soffen, L.L.P. 1180 Avenue of the Americas, New York, NY 10036 (US).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LI, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/072075 A1

(54) Title: ORAL PEPTIDE PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM AND METHOD OF PRODUCTION

(57) Abstract: A pharmaceutical composition for oral delivery of a peptide is in the form of a lamination having at least two layers. The first layer of the lamination includes at least one pharmaceutically acceptable pH-lowering agent. The second layer includes a therapeutically effective amount of the peptide. The composition also includes at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of the peptide, which is preferably in the second layer, and an enteric coating surrounding the lamination. In a preferred dosage form of a tablet, a water-soluble coating is applied between the lamination and the enteric coating which substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the enteric coating. In a preferred embodiment, the peptide is salmon calcitonin, the pH-lowering agent is citric acid, and the absorption enhancer is lauroyl L-carnitine.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

ORAL PEPTIDE PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM AND
METHOD OF PRODUCTION

Field of the Invention

The present invention relates to oral peptide pharmaceutical dosage forms, to methods of enhancing the bioavailability of orally administered peptides, and to methods of production of tableted dosage forms useful for the treatment of disorders in humans by orally administering a peptide in accordance with the invention.

Background of the Invention

Salmon calcitonin is a peptide hormone that decreases uptake of calcium from bone. When used to treat bone-related diseases and calcium disorders (such as osteoporosis, Paget's disease, hypercalcemia of malignancy, and the like), it has the effect of helping maintain bone density. Many types of calcitonin have been isolated, such as human calcitonin, salmon calcitonin, eel calcitonin, elkatonin, porcine calcitonin, and chicken calcitonin. There is significant structural non-homology among the various calcitonin types. For example, there is 50% identity between the amino acids making up human calcitonin and those making up salmon calcitonin.

Salmon calcitonin used in the prior art has usually been administered by injection or by nasal administration. However, these modes of administering the calcitonin are significantly less convenient than oral administration and involve more patient discomfort. Often this inconvenience or discomfort results in substantial patient noncompliance with a treatment regimen. However, the prior art is not believed to have reported an ability to achieve reproducible blood levels of peptides such as salmon calcitonin when administered orally. This is believed to be because these peptides lack sufficient stability in the gastrointestinal tract, and tend to be poorly transported through intestinal walls into the blood.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

2

Proteolytic enzymes of both the stomach and intestines may degrade salmon calcitonin, rendering it inactive before the calcitonin can be absorbed into the bloodstream. Any salmon calcitonin that survives proteolytic degradation by proteases of the stomach (typically having acidic pH optima) is later confronted with proteases of the small intestine and enzymes secreted by the pancreas (typically having neutral to basic pH optima). Other difficulties arising from the oral administration of salmon calcitonin involve the relatively large size of the molecule, and the charge distribution it carries. This may make it more difficult for salmon calcitonin to penetrate the mucus along intestinal walls or to cross the intestinal brush border membrane into the blood. These additional problems may further contribute to the limited bioavailability of salmon calcitonin.

U.S. Patent No. 5,912,014 (the '014 patent) to Stern et al. describes a therapeutically effective oral pharmaceutical composition for delivering salmon calcitonin into the small intestine. According to that patent, it is believed that protecting the salmon calcitonin with an enteric coating can reduce the likelihood of proteolytic degradation of the salmon calcitonin in the stomach. Although the patent describes salmon calcitonin administration in a tablet form, the patent does not disclose a commercially viable dosage form comprising a peptide generally, nor does it describe a method of making such a dosage form. For example, during the compression phase of a composition prepared according to the '014 patent, it was found that some material would irreversibly stick to the tooling surface. Moreover, a monolayer tablet prototype exhibited poor stability when stored at ambient conditions. The '014 patent also does not describe solutions to the problems that arise in combining peptides, surfactants, and pH-lowering agents in a single enteric coated dosage form for production at a commercial scale.

Notwithstanding the foregoing, there is a need in the art for a commercially viable dosage form that maintains peptide stability in the presence of pH-lowering agents.

Summary of the Invention

In one aspect, the invention provides a pharmaceutical composition for oral delivery of a peptide. The composition comprises a lamination having at least two layers. The first layer comprises at least one pharmaceutically acceptable pH-lowering agent. The second layer comprises a therapeutically effective amount of a peptide. The composition also includes at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of the peptide.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

3

which is preferably in the second layer. The composition also includes an enteric coating surrounding the lamination.

A second aspect of the invention provides a method for enhancing the bioavailability of a peptide delivered orally. The method comprises selectively releasing a peptide, together with at least one pH-lowering agent and at least one absorption enhancer, into a patient's intestine following passage of the peptide, pH-lowering agent, and absorption enhancer through a patient's mouth and stomach under protection of an enteric coating and a water-soluble coating. The enteric coating substantially prevents contact between stomach proteases and the peptide, while the water-soluble coating further substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the enteric coating.

A third aspect of the invention provides a tableted dosage form for the delivery of a peptide and the method of making the same. The dosage form comprises a lamination having a first layer comprising at least one pharmaceutically acceptable pH-lowering agent and a second layer comprising a therapeutically effective amount of a peptide. The dosage form also includes at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of the peptide, a water-soluble coating formed over the lamination, and an enteric coating formed over the water-soluble coating. As detailed below, the water-soluble coating substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the enteric coating, thereby substantially preventing inhibition of the dissolution of the enteric coating by the pH-reducing agent.

According to a method for making a dosage form, a pH-lowering agent is granulated to form a first layer material. A peptide and at least one absorption enhancer are combined to form a second layer material. Then, the first and second layer materials are formed into a lamination having at least two layers. The method also includes coating the lamination with a water-soluble coating to form a coated lamination and then forming an enteric coating over the coated lamination.

It is to be understood that both the foregoing general description and the following detailed description are exemplary, but are not restrictive, of the invention.

Detailed Description of the Invention

In accordance with the invention, patients in need of treatment with a peptide, such as calcitonin or salmon calcitonin, are provided with an oral dosage form containing the peptide in a tablet of an ordinary size in the pharmaceutical industry. In accordance with this invention, the dosage form or composition includes a lamination having at least two layers. As used herein, the term "lamination" shall have its conventional meaning as something which is composed of layers of firmly united material, but which involves little interaction between the layers. The first layer comprises at least one pharmaceutically acceptable pH-lowering agent and the second layer comprises a therapeutically effective amount of a peptide. The composition also includes at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of the peptide, and an enteric coating surrounding the lamination. The composition may be in the form of a capsule or tablet, and preferably as in the form of a tablet, in which case a water-soluble coating is applied over the lamination, between the lamination and the enteric coating. For the reasons described below, when the peptide is salmon calcitonin and the pH lowering agent is citric acid, it is preferable to have the absorption enhancer, such as lauroyl L-carnitine, incorporated into the second layer. The dosages and frequency of administering the products are performed in manners well known in the art.

Patients who may benefit are any who suffer from disorders or diseases that are treatable by administration of a peptide. The invention may be used, for example, to treat osteoporosis, Paget's disease, hypercalcemia, and other diseases treatable by administration of a peptide.

Salmon calcitonin is a preferred peptide for use in accordance with the invention because it has been widely characterized, its properties are well known, it provides a number of advantages over human calcitonin, and it is used as a pharmaceutical agent for human patients. Among the advantages provided by utilizing salmon calcitonin instead of human calcitonin for the treatment of human osteoporosis are increased potency, analgesia, and increased half-life.

The pharmaceutical composition of the invention overcomes a series of different and unrelated natural barriers to bioavailability. Various components of the pharmaceutical composition act to overcome different barriers by mechanisms appropriate to

WO 02/072075

PCT/US02/07197

5

each, and result in synergistic effects on the bioavailability of the peptide. However, as discussed below, inherent physical and chemical properties of peptides, enteric coatings and pH-lowering agents, without more, are also counterproductive in boosting bioavailability and enhancing stability of the dosage form when combined together.

5 The peptide of the invention is typically administered orally. In accordance with the invention, proteolytic degradation of the peptides by stomach proteases (most of which are active in the acid pH range) and intestinal or pancreatic proteases (most of which are active in the neutral to basic pH range) is reduced. Furthermore, solubility enhancers or surfactants aid passage of the peptide active agent through the intestinal epithelial barrier.

10 Without intending to be bound by theory, it appears that, in accordance with the present invention, the peptide is transported through the stomach under the protection of an enteric coating or other appropriate vehicle for substantially preventing contact between the peptide and any stomach proteases capable of degrading the peptide. Accordingly, it is desirable to select a material for the enteric coating and an appropriate thickness of the
15 coating such that the coating protects the pharmaceutical composition for a sufficient time to allow the dosage form to no longer be exposed to stomach proteases. Once the pharmaceutical composition of the invention passes through the stomach and enters the intestinal region where basic to neutral pH predominates, and where proteases tend to have basic to neutral pH optima, the composition releases the peptide and acid (in close proximity
20 to each other).

 It is believed the acid lowers the local intestinal pH, where the active agent has been released to levels below the optimal range for many intestinal proteases. This decrease in pH reduces the proteolytic activity of the intestinal proteases, thus affording protection to the peptide from potential degradation. In other words, the activity of these proteases is
25 diminished by the temporarily acidic environment provided by pH lowering agent. It is preferred that sufficient acid be provided that local intestinal pH is lowered temporarily to 5.5 or below, especially a range between about 4.0 and 5.5. The sodium bicarbonate test described below (and in U.S. Patent No. 5,912,014, incorporated herein by reference) is indicative of the required acid amount. Preferably, conditions of reduced intestinal pH
30 persist for a time period sufficient to protect the peptide agent from proteolytic degradation until at least some (and preferably most or all) of the peptide agent has had an opportunity to cross the intestinal wall into the bloodstream.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

6

The absorption enhancer, which may be a solubility enhancer and/or transport enhancer (as described in the '014 patent), aids transport of the peptide agent from the intestine to the blood, and may speed the process so that it better occurs during the time period of reduced intestinal pH and reduced intestinal proteolytic activity. Many surface active agents may act as both solubility enhancers and uptake enhancers. Again, without intending to be bound by theory, it is believed that enhancing solubility provides (1) a more simultaneous release of the active components of the invention into the aqueous portion of the intestine, and (2) better solubility of the peptide in, and transport through, a mucous layer along the intestinal walls. Once the peptide reaches the intestinal walls, an uptake enhancer provides better transport through the brush border membrane of the intestine into the blood, via either transcellular or paracellular transport. As discussed in more detail below, many preferred compounds may provide both functions. In those instances, preferred embodiments utilizing both of these functions may do so by adding only one additional compound to the pharmaceutical composition, although it is not necessary that the absorption enhancer provide both of these functions. It should be pointed out that the term "absorption enhancer" as used herein may function either as a solubility enhancer, a transport enhancer, or both. In particular, with respect to lauroyl L-carnitine, it appears that this absorption enhancer functions as at least a solubility enhancer.

Each of the preferred ingredients of the pharmaceutical composition of the invention is separately discussed below. Combinations of multiple pH-lowering agents or surfactants can be used as well as using just a single pH-lowering agent and single surfactant. Some preferred combinations are discussed below.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

7

The Peptide

The peptide is preferably present in an amount that is therapeutically effective in a typical dosage form provided commercially. This exact amount will vary depending on the peptide use, its solubility, the disease or illness being treated, bioavailability, as well as many other factors well known in the art. When the peptide is salmon calcitonin, it has been found that the peptide may be present in an amount of from about 0.02 to 0.2% by weight relative to the total weight of the overall pharmaceutical composition (exclusive of enteric coating). Although calcitonin is the typical peptide used in the present invention, with salmon calcitonin preferred, other peptides for use in the present invention include the peptides described in the '014 patent.

Peptide precursors may be made by either chemical or recombinant syntheses known in the art. However, the latter is believed significantly more cost effective. The production of recombinant salmon calcitonin (rsCT) may proceed, for example, by producing glycine-extended salmon calcitonin precursor in *E. coli* as a soluble fusion protein with glutathione-S-transferase, as described in the '014 patent.

The pH-Lowering Agent

The total amount of the pH lowering compound to be administered with each administration of peptide should preferably be an amount which, when it is released into the intestine, is sufficient to lower the local intestinal pH substantially below the pH optima for proteases found in the local area of the intestine. The quantity required will necessarily vary with several factors including the type of compound used and the equivalents of protons provided by a given compound in practice. The typical amount required to provide good bioavailability for the administered peptide is an amount which, when added to a solution of 10 milliliters of 0.1 M sodium bicarbonate, lowers the pH of that sodium bicarbonate solution to no higher than 5.5, and preferably to between 4.0 and 5.5.

The pH-lowering agent of the invention may be any pharmaceutically acceptable compound that is not toxic in the gastrointestinal tract and is capable of either delivering hydrogen ions (a traditional acid) or of inducing higher hydrogen ion content from the local environment. It may also be any combination of such compounds. Examples of compounds are well known in the art, as described in the '014 patent. In the present invention, citric acid is preferred.

The Absorption Enhancer

One or more absorption enhancers (also referred to herein as surfactants) are preferably present in a quantity that shows some improvement in promoting the bioavailability of the peptide. Typically, this amount may constitute from 0.1 to 20.0% by weight, relative to the overall weight of the pharmaceutical composition (exclusive of the enteric coating). Preferred absorption enhancers are surface active agents which act both as solubility enhancers or uptake enhancers or both. As mentioned above, "solubility enhancers" improve the ability of the active components of the invention to be solubilized in either the aqueous environment into which they are originally released or into the lipophilic environment of the mucous layer lining the intestinal walls, or both. "Uptake enhancers" (which are frequently the same surface active agents used as solubility enhancers) are those which facilitate the ease by which peptide agents cross the intestinal wall.

One or more absorption enhancers may perform one function only (e.g., solubility), or one or more absorption enhancers may perform the other function only (e.g., uptake), within the scope of the invention. It is also possible to have a mixture of several compounds some of which provide improved solubility, some of which provide improved uptake and/or some of which perform both, as described in U.S. Patent No. 5,912,014. Without intending to be bound by theory, it is believed that uptake enhancers may act by (1) increasing disorder of the hydrophobic region of the membrane exterior of intestinal cells, allowing for increased transcellular transport; (2) leaching membrane proteins resulting in increased transcellular transport; or (3) widening pore radius between cells for increased paracellular transport.

When surface active agents are used as the absorption enhancers, it is preferred that they be free flowing powders for facilitating mixing. However, because of inherent characteristics of peptides (e.g., isoelectric point, molecular weight, amino acid composition, etc.) certain surface active agents are preferred. Indeed, some can undesirably interact with the charged portions of the peptide and prevent its absorption, thus undesirably resulting in decreased bioavailability. It is well within the skill of one in the art to determine which surface active agents are most suitable for increasing the bioavailability of the peptide. For example, when the peptide comprises salmon calcitonin, the surface active agent used as an absorption enhancer should be selected from the group consisting of (i) anionic surface active agents that are cholesterol derivatives (e.g., bile acids), (ii) cationic surface agents

WO 02/072075

PCT/US02/07197

9

(e.g., acyl-carnitines, phospholipids and the like), (iii) nonionic surface active agents, and (iv) mixtures of anionic surface active agents (especially those having linear hydrocarbon regions) together with negative charge neutralizers for salmon calcitonin.

When the peptide is salmon calcitonin, negative charge neutralizers include but are not limited to acyl-carnitines, cetyl pyridinium chloride, and the like. Preferably, the charge neutralizer is lauroyl l-carnitine. It is also preferred that the absorption enhancer be soluble at acid pH, particularly in the pH = 3.0 to 5.0 range. When a single absorption enhancer is used alone, it is preferred that it be a cationic surface active agent. It is the intent of these preferences to avoid interactions with the peptide that interfere with absorption of peptide into the blood.

Other Optional Ingredients

All pharmaceutical compositions of the invention may optionally also include common pharmaceutical binders such as povidone, diluents, glidants, fillers such as microcrystalline cellulose, lubricants such as magnesium stearate, disintegrants such as croscarmellose sodium, preservatives, colorants and the like in their usual known sizes and amounts. In some embodiments, peptides that may act as substrates for intestinal proteases are added (preferably from 0.2 to 10.0% by weight relative to the weight of the overall pharmaceutical composition (exclusive of enteric coating)).

The Enteric Coating

Any enteric coating that protects the peptide from stomach proteases and which releases active components of the invention in the intestine is suitable. The enteric coating functions by providing a coating that does not dissolve in low pH environments, such as the stomach. Many enteric coatings are known in the art, and are useful in accordance with the invention. Examples include cellulose acetate phthalate, hydroxypropylmethylethylcellulose succinate, hydroxypropylmethylcellulose phthalate, polyvinyl acetate phthalate, and methacrylic acid-methyl methacrylate copolymer.

It is very desirable that all of the active components be released from the dosage form, and solubilized in the intestinal environment as simultaneously as possible. It is preferred that the dosage form release the active components in the small intestine. To this end, it is desirable to use an enteric coating material. Preferably, the enteric coating adds no

WO 02/072075

PCT/US02/07197

10

more than 20% to the weight of the remainder of pharmaceutical composition (exclusive of enteric coating). More preferably, it adds from 3 to 15% to the weight of the uncoated composition.

The Water-Soluble Coating

5 Any water-soluble coating that substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the enteric coating is suitable. Many water-soluble coatings are known in the art, and are useful in accordance with the invention. Examples include hydroxypropylmethylcellulose, hydroxypropylcellulose and methylcellulose.

10 As described above, it is very desirable that all of the active components be released from the dosage form and solubilized in the intestinal environment as simultaneously as possible. However, the pH-lowering agent typically inhibits the dissolution of the enteric coating by lowering the local pH. To solve this problem, in one embodiment, the inventors have provided a water-soluble coating positioned between the dosage form and the enteric coating, thereby substantially preventing contact between the pH-lowering agent and the enteric coating.

15 Preferably, the water-soluble coating adds no more than 20% to the weight of the remainder of pharmaceutical composition (exclusive of water-soluble coating). Typically, the water-soluble coating adds no more than 0.5 to 10% to the weight of the pharmaceutical composition. More preferably, it adds from 0.5 to 5% to the weight of the uncoated composition.

The Dosage Form and Manufacture Thereof

25 The dosage form of the present invention typically comprises a tablet comprising a lamination of at least two layers. The primary component of the first layer is typically the pH-lowering agent described above. The primary components of the second layer are typically the peptide and, optionally, the absorption enhancer. When combined in the manner described below, the constituents form a tablet having at least two layers. Although a two layer tablet is preferred due to its relative ease of manufacture, it is also possible to have three or more layers wherein the second layer is substantially comprised of the peptide and the third layer comprises the surfactant.

The first layer is manufactured by granulating at least one pH-lowering agent to form a first layer material. While citric acid is the preferred pH-lowering agent, citric acid alone does not exhibit the required compressibility characteristics. Therefore, during and after the granulation, other materials may be added to the pH-lowering agent to improve its mechanical properties. Specifically, during granulation in a fluidized bed, filler materials such as microcrystalline cellulose and a povidone binder may be added in amounts well known in the art. Next, the resultant granulation is dried and optionally sized in a mill in any manner well understood to those of ordinary skill in the art. Additionally, the granulation may be combined with glidants and lubricants such as talc and magnesium stearate, as described above, to further improve compressibility and flowability of the granulation, thereby forming the first layer material.

The second layer material is formed by combining a peptide and at least one absorption enhancer (i.e., a surfactant). The second layer also may be manufactured in a fluidized bed. Because the peptide exhibits relatively high biological activity in small quantities, the second layer is produced by spraying the peptide and a binding agent, such as povidone, upon a surfactant or a mixture of at least one excipient and the surfactant. As described above, the surfactant is typically an acyl-carnitine, with lauroyl L-carnitine preferred in the present invention. The optional excipient typically comprises an amount of a filler, such as microcrystalline cellulose, sufficient to provide proper adhesion between the layers, as understood by one of ordinary skill in the art. The resultant granulation is then dried and optionally sized in a mill in any manner well understood to those of ordinary skill in the art. Finally, the granulation is optionally transferred to a blender where the granulation is optionally blended with a disintegrant such as croscarmellose sodium or one or more other suitable disintegrants in amounts up to about 10.0% of the weight of the granulation, with about 2.0% by weight preferred. Although optional, without the disintegrants, bioavailability of the peptide may be compromised because complete release of the peptide may not be effected at the same time as the pH-lowering agent.

Other lubricants and additives such as magnesium stearate and stearic acid as well as other excipients such as colloidal silicon dioxide and povidone may also be added to improve the properties of the second layer material in a manner known in the art.

Next, a portion of the first layer material is fed to a standard two-layer tableting press and filled into a die or mold. The first layer material is then partially

WO 02/072075

PCT/US02/07197

12

compressed to create a first layer. The partial compression is typically necessary to prevent substantial mixing between the first layer material and the second layer material when the second layer material is added to the die. Subsequent to partial compression of the first layer material, the second layer material is then added to the die containing the first layer. The first and second layer materials are then compressed together to form a tablet having two layers.

Typically, the first layer material constitutes about 50% to 90% of the total weight of the final tablet. Preferably, the first layer material constitutes about 70% of the total weight of the tablet. The second layer material typically constitutes about 50% to 10% of the total weight of the final tablet. Preferably, the second layer material comprises about 30% of the total weight of the final tablet.

Since the first layer material had been previously partially compressed into a layer, substantial mixing of the second layer material with the first layer material is avoided. The two layer structure of the present invention substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the peptide and surfactant. Specifically, at the interface between the two layers, typically less than 0.1% of the peptide contacts the pH-lowering agent.

After the tablets are removed from the press, the two-layer table cores are coated with a water-soluble coating or seal coat having a composition as described above. The coating is accomplished in a manner known in the art. As also described above, the water-soluble coating substantially prevents contact between the pH-lowering agent and the enteric coating to be applied.

After the water-soluble coating dries, the tablets are coated with an enteric coating. As described above, the enteric coating does not dissolve in acidic conditions (low pH), and therefore the enteric coating substantially prevents dissolution of the tablet in the acid conditions of the stomach, protecting the peptides in the tablet from the various proteases and digestive enzymes present in the stomach. Once the coated tablet enters the small intestine (having a higher local pH), the enteric coating dissolves. However, the inventors have found that in the absence of a separate coating positioned between the enteric coating and pH-lowering agent, the pH-lowering agent inhibits dissolution of the enteric coating because of the lower local pH induced by the pH-lowering agent. Thus, to effectively dissolve the enteric coating and prevent retardation of release of the active agents,

WO 02/072075

PCT/US02/07197

one embodiment of the invention coats the tablets with a water-soluble coating before the enteric coating. Therefore, the enteric coating can readily dissolve without inhibition by the pH-lowering agent present in the tablet.

EXAMPLES

The following examples are representative, not limiting, of the invention.

Example 1

Table 1 provides an exemplary description of a typical embodiment of the present invention. The first layer pH-lowering agent granulation was processed using a GPCG-5 fluid bed unit, manufactured by Glatt Air Techniques, Inc. Further, the second layer peptide/surfactant granulation was processed using a GPCG-3 fluid bed unit, also by Glatt Air Techniques, Inc. The surfactant was milled prior to granulation using a commercially available Fitzmill equipped with a size 00 screen at high speed in hammers forward mode. The water was present only for processing and was evaporated out prior to compression into tablets.

Table 1: Composition of first and second layer prototype granulations/blends

FIRST LAYER COMPONENTS	Mg/ tablet	Batch Quantity (g)	SECOND LAYER COMPONENTS	mg/ tablet	Batch Quantity (g)
<u>PH-Lowering Agent Granulation</u>			<u>Peptide/Surfactant Granulation</u>		
Povidone USP	25.0	350	Salmon Calcitonin, peptide	0.2	2.00
Purified Water USP	-	1750	Povidone USP	11.0	110
Citric Acid Powder	500.0	7000	Purified Water USP	-	550
Microcrystalline Cellulose	50.0	700	Lauroyl l-carnitine, milled	50.0	500
			Microcrystalline Cellulose	158.8	1588
Total granulation	575.0	8050	Total granulation	220.0	2200
<u>PH-Lowering Agent Final Blend</u>			<u>Peptide/Surfactant Final Blend</u>		
Microcrystalline Cellulose	65.3	915	Silicon dioxide	2.2	22
Talc	6.5	91	Stearic acid	2.2	22
Magnesium Stearate	6.5	91			
Total blend	653.3	9147	Total blend	224.4	2244

WO 02/072075

PCT/US02/07197

15

During the application of the salmon calcitonin/binder solution to the surfactant and excipient, the size of the granules progressively enlarged. However, it was observed that these granules fractured into smaller particles during drying, resulting in a material with moderate flow properties.

5 The citric acid was granulated by spraying a povidone binder solution onto a fluidized bed of citric acid and microcrystalline cellulose. The resultant dried material was highly granular, essentially lump-free and free flowing. The "final blend" ingredients at the bottom of Table 1 were added to the respective granules after the initial granulation, drying, and milling, as described above.

10 Two-layer tablets were compressed using a Key BBC-4 two-layer press, commercially available from Key International, Inc., Englishtown, New Jersey. The citric acid blend was used as the first layer and accordingly was placed in a die of the tableting press first and then partially compressed. Next, the salmon calcitonin and surfactant granulation was added to the die after the partial compression step, and both layers were then
15 compressed together to form the layered tablet. As a comparative example, a monolayer tablet stability study was conducted in which the peptide, surfactant, and pH-lowering agent were combined in a single layer as shown in Table 3.

To determine the relative stability of tablets manufactured from the materials described in Table 1 above, tablets having the composition set forth in the table were
20 packaged with two 1 gram desiccant canisters in induction sealed 90 cc HDPE bottles. The results of stability testing are shown in Table 2. In Table 2, the % LC (label claim) was determined as an average value of three tablets, tested using high pressure liquid chromatography. Accordingly, the initial % LC is relative to the amount of peptide present in the dosage form, and is used only as a baseline for subsequent measurements. The "%
25 Recovered" was calculated according to $\text{final \% LC} + \text{initial \% LC} \times 100$. The % noted under "Storage Condition" is described as percent relative humidity (RH).

WO 02/072075

PCT/US02/07197

16

Table 2: Three month recovery of salmon calcitonin (peptide) 0.2 mg two layer enteric coated tablet manufactured using a two layer press as described above.

Stabilization Approach (General description)	Initial, % LC	Storage Condition	Final, % LC	Percent recovered
	104.8	4°C	102.2	97.5
Layer 1: peptide/surfactant granulation.		25°C/60%	96.5	92.1
Layer 2: pH-lowering agent granulation.		30°C/60%	93.2	88.9
		40°C/75%	75.2	71.8

For the tablets described in Table 3, the tablets were manufactured using similar materials as set forth in Table 1, on a Manesty Beta Press. Each tablet contained about .2 mg of the peptide, about 500 mg. of the pH-lowering agent and about 50 mg. of the surfactant. In the last example, each tablet also contained about 100 mg. of microcrystalline cellulose. The constituents were combined in the manner described in Table 3 to form a mono-layer tablet.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

17

Table 3: Evaluation of different stabilization strategies on the stability of salmon calcitonin peptide in monolayer enteric coated tablets after 3 months of storage.

Stabilization Approach (General description)	Initial % LC	Storage Condition	Final, % LC	Percent recovered
Control monolayer	92.2	4°C	93.1	101.0
salmon calcitonin/lauroyl l-carnitine/citric acid granulation.		25°C/60%	75.7	82.1
Salmon calcitonin/citric acid granulation, pH 3.5, blended with lauroyl l-carnitine.	88.4	4°C	89.8	101.6
		25°C/60%	59.7	67.5
		40°C/75%	12.4	14.0
Salmon calcitonin/citric acid granulation blended with lauroyl l-carnitine.	91.0	4°C	95.4	104.8
		25°C/60%	70.5	77.5
		40°C/75%	20.9	23.0
Salmon calcitonin/microcrystalline cellulose granulation blended with lauroyl l-carnitine and citric acid granulation.	96.7	4°C	94.5	97.7
		25°C/60%	80.8	83.6
		40°C/75%	44.0	45.5

A comparison of the data provided in Tables 2 and 3 indicates that by separating the peptide from the pH-lowering agent in a multi-layer tablet, the shelf life of the peptide is significantly enhanced. For example, at 40°C and 75% relative humidity, 71.8% of the peptide was recovered from the bi-layer tablets after 3 months, as shown in Table 2. However, with respect to the mono-layer tablets, at 40°C and 75% relative humidity, depending on the stabilization method only 14%, 23% and 45% of the peptide was recovered after 3 months, as shown in Table 3.

In the next examples, a series of two layer tablets were manufactured with strengths ranging from 0.05 mg to 0.5 mg, and subjected to a battery of analyses. Table 4 shows the precise composition of salmon calcitonin 0.5 mg two layer enteric coated tablets. Although magnesium stearate is preferred, stearic acid was used in the second layer, as described in Table 4. Because the pharmaceutical active ingredient is present in such minute

WO 02/072075

PCT/US02/07197

18

quantities relative to the other ingredients, all lower tablet strengths were made by dissolving a proportionally smaller quantity of salmon calcitonin in the binder solution while maintaining the quantities for the other components. A Key BBC-4 two layer rotary press was used to compress the final blends into oval-shaped plain faced two layer tablets (0.720 x 0.365 x 0.052) according to the guides listed in Table 5. Thereafter the tablet cores were sealed and enteric coated.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

19

Table 4: Composition of a salmon calcitonin 0.5 mg two layer enteric coated tablet

NO.	% w/w	INGREDIENTS	FORMULA PER 1000 TABLETS
First Layer			
1	50.01	Citric Acid, USP/EP Anhydrous Powder	500.0 g
2	5.00	Microcrystalline Cellulose, NF/EP	50.0 g
3	2.50	Povidone, USP/EP	25.0 g
4	q.s.	Purified Water USP	q.s. ¹
5	6.53	Microcrystalline Cellulose, NF/EP	65.3 g
6	0.65	Talc, UPS (400)	6.5 g
7	0.65	Magnesium Stearate (Non-Bovine)	6.5 g
	<u>65.34</u>	First Layer Total Weight	<u>653.3g</u>
Second Layer			
8	0.05	Salmon Calcitonin	0.5 mg
9	15.85	Microcrystalline Cellulose, NF/EP	158.5 g
10	5.00	Lauroyl-L-Carnitine HCl, milled	50.0 g
11	1.10	Povidone, USP/EP	11.0 g
12	q.s.	Purified Water USP	q.s. ¹
13	0.46	Croscarmellose Sodium	4.6 g
14	0.23	Silicon Dioxide, Colloidal NF/EP	2.3 g
	<u>0.25</u>	Stearic Acid Powder, NF Triple Pressed	<u>2.3 g</u>
	<u>88.26</u>	Second Layer Total Weight	<u>229.2 g</u>
		Tablet Core Total Weight	882.5 g
16	2.65	Hydroxypropylmethylcellulose and polyethylene glycol (Opadry® Clear)	26.5 g
17	q.s.	Purified Water USP/EP	q.s. ¹
	<u>90.90</u>	Film Coated Tablet Total Weight	<u>909.0 g</u>
18	6.99	Polymer of Methacrylic Acid and Methacrylates (Eudragit L30D)	69.9 ² g
19	0.70	Talc USP (400)	7.0 g
20	1.40	Triethyl Citrate, NF	14.0 g
21	q.s.	Purified water USP/EP	q.s. ¹
	<u>100.00</u>	Enteric Coated Tablet Total Weight	<u>999.9 g</u>

¹ Does not appear in final product.² Available as a 30% w/w aqueous dispersion; formula listed as polymer solids content.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

20

Table 5: Guides employed for the compression of salmon calcitonin 0.5 mg two layer tablets

	Target	Working Limits			Alert Limits		
		± %	Low	High	± %	Low	High
Wt. of 10 First Layer Tabs (g)	6.53	5	6.20	6.86	8	6.01	7.05
Wt. of 10 Second Layer (g)	2.29	5	2.18	2.40	8	2.11	2.47
Wt. of 10 Total Tablets (g)	8.82	5	8.38	9.26	8	8.11	9.53
Hardness (KP)	20	N/A	16	24	N/A	N/A	N/A

The active pharmaceutical ingredient is incorporated into the tablet at extremely low levels and it was, therefore, anticipated that tablet content uniformity could be problematic. For this reason, during the early stages of process development, it was concluded that a top spray fluid bed process would be the best approach to homogeneously distribute the polypeptide onto the massive excipients. Table 6 displays the results of content uniformity, dissolution, and stability of salmon calcitonin 0.05, 0.1, 0.2, and 0.5 mg two layer enteric coated tablets.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

21

Table 6: Content uniformity, dissolution, and stability results of salmon calcitonin (peptide) two layer enteric coated tablets

Peptide strength	Content Uniformity ¹		Peptide Dissolution Profile, % ²	Initial, %LC ⁴	Stability ³		
	Peptide, %LC	Lauroyl L-carnitine, %LC			Storage Condition	Three Months %LC	Six Months %LC
0.5 mg	102.5 RSD=1.0	98.5 RSD=0.9	Acid stage: 0% ⁵	103.6	4°C	105.4	106.2
			Buffer stage:				
			15 min.: 0			25°C/60%	98.2
			30 min.: 0			30°C/60%	98.4
			45 min.: 25 (19-43)			40°C/75%	63.6
0.1 mg	108.3 RSD=1.4	99.0 RSD=1.6	Acid stage: 0%	105.2	4°C	-	-
			Buffer stage:				
			15 min.: 0			25°C/60%	-
			30 min.: 2 (0-7)			30°C/60%	-
			45 min.: 23 (11-46)			40°C/75%	-
0.2 mg	99.6 RSD=1.3	95.4 RSD=1.3	Acid stage: 0%	108.7	4°C	105.5	105.6
			Buffer stage:				
			15 min.: 0			25°C/60%	102.1
			30 min.: 5 (2-8)			30°C/60%	97.8
			45 min.: 31 (19-42)			40°C/75%	68.3
0.5 mg			Acid stage: 0%	101.8	4°C	98.1	95.9
			Buffer stage:				
			15 min.: 0			25°C/60%	93.2
			30 min.: 37 (11-84)			30°C/60%	87.4
			45 min.: 86 (82-89)			40°C/75%	42.6

- 5 ¹ Average content uniformity and % RSD of salmon calcitonin and lauroyl L-carnitine was determined using 10 tablets.
² Dissolution results show average and range of six tablets.
³ Thirty tablets packaged with two 1 gram desiccant canisters in induction sealed 90 cc HDPE bottles.
⁴ Stability results average value of three tablets.
⁵ Calculated according to final %LC - initial LC.
⁶ Acid stage of enteric coated tablet dissolution testing conducted for 120 minutes prior to buffer stage.
10 Note: All samples tested using HPLC. Stability results of the 0.05, 0.1, and 0.2 mg tablets are from different batches than those used to obtain the content uniformity and dissolution data.

Assay of the final tablets revealed that all strengths had excellent content uniformity for both the salmon calcitonin and the lauroyl L-carnitine and passed the USP criteria for content uniformity (all tablets 85%-115% of LC with RSD ≤ 6%. It was found

that nearly all of the individual test tablets were within 5% of the label claim value and that no tablet differed by more than 7% from LC. In addition, relative standard deviations of the tablets were tight, ranging from 0.9 to 1.6%. During dissolution analysis, the active pharmaceutical ingredient was not detected in the acidic media of any of the tested tablets, indicating that all tablet doses satisfied the USP dissolution requirements for enteric coated tablets. It can be seen in Table 6 that the enteric coat consistently delayed the dissolution of the salmon calcitonin for at least fifteen minutes in the buffer. Thereafter, 60-75 minutes was typically required for dissolution of greater than 75% of the drug load. Stability results of the three strengths demonstrated that greater than 90% of the initial quantity of the active pharmaceutical ingredient could be recovered after three months of storage at ambient conditions. In addition, it was found that slightly more than 15% of the drug could not be accounted for from the 0.5 mg tablet after six months of storage at ambient conditions. These data suggest that the room temperature storage stability is probably between three and six months. Analysis of the samples in the refrigerator conditions for six months indicate that 5°C would be required for the long-term storage of the salmon calcitonin tablets.

In a next example, a proof of concept clinical batch of salmon calcitonin 0.5 mg two layer enteric-coated tablets was manufactured using the formulation listed in Table 4. In this study, both the first layer and second layer granulations were prepared in a GPGC-5 fluid bed processor. The dried granulations were delumped using a Comil (Quadro Engineering, Inc., Ontario, Canada), and the granulations were separately mixed with delumped extragranular excipients in a twenty-four liter Matcon Bulls bin blender. A Key BBC-4 two layer rotary press was used to compress the final blends into oval-shaped plain faced two layer tablets (0.720 x 0.365 x 0.052), according to the guides listed in Table 5. Crushing strength was determined immediately after compression with a hardness tester. Tablet cores were seal coated and enteric coated in a 24" Accella-Cota device.

The salmon calcitonin 0.5 mg clinical batch was evaluated in a single center study employing an open label, single dose, randomized, three treatment phase crossover design (Hammersmith II trial). A total of sixteen healthy volunteers comprised of eight males and eight females received the study medication. Each subject received an oral dose of the test tablet and, on a separate occasion, one dose (0.04 mg) of an inhaled calcitonin based formulation as a positive control. The subjects were fasted from midnight preceding the day of the administration of the dosage form, but were allowed free access to water. For

WO 02/072075

PCT/US02/07197

23

each of the oral phases, blood samples were collected prior to dosing and every fifteen to thirty minutes up to three hundred minutes post dosing. A washout period of seven days occurred between subsequent treatment phases. Plasma calcitonin concentration was determined by PPD Pharmoco, Richmond, Virginia. Analysis of the test results from the proof of concept clinical study confirmed that the prototype two layer formulation was effective in promoting the oral absorption of the salmon calcitonin polypeptide. Quantifiable levels of salmon calcitonin could be detected in the plasma of a majority (greater than 80%) of the subjects following the administration of the oral dosage form. In general, the pharmacokinetic parameters exhibited high interpatient variability. Average C_{max} values of the oral tablet dose was 167 ± 218 pg/ml with a range of 0-800. T_{max} values in patients exhibiting a response range from 135-360 minutes, with an average value of 216 ± 70 minutes. In sharp contrast, less than 19% of the patients receiving the inhaled dose had detectable blood levels.

In the next example, a pilot scale-up batch of placebo and active salmon calcitonin 0.1 mg two layer enteric coated tablets were prepared to evaluate the processability of the entire manufacturing procedure, define the processing conditions at scale, and aid in the transfer of the process to the manufacturing site. Tablets were prepared using the general formulation listed in Table 4 with 0.1 mg rather than 0.5 mg or no active pharmaceutical ingredient in the case of the placebo batch.

Both the first layer and second layer granulations were manufactured in the GPGC-60 fluid bed processor and top spray mode using the process conditions listed in Table 7.

Table 7. Processing conditions employed for the pilot scale manufacture of citric acid and salmon calcitonin/lauroyl l-carnitine granulations using a GPCG-60 fluid bed unit, manufactured by Glatt Air Techniques, Inc.

FIRST LAYER (Citric Acid) GRANULATION PARAMETERS USING A GPCG-60 (Two 65 kg batches)		SECOND LAYER (Salmon Calcitonin/lauroyl l-carnitine) GRANULATION PARAMETERS USING A GPCG-60 (One 48 kg batch)	
Inlet air temperature	45-55°C	Inlet air temperature	35-55°C
Product temp. (before spraying)	25-50°C	Product temp. (before spraying)	25-40°C
Product temp. (during spraying)	27-40°C	Product temp. (during spraying)	20-30°C
Product temp. (during drying)	27-48°C	Product temp. (during drying)	20-40°C
Exhaust temp. (during spraying)	27-45°C	Exhaust temp. (during spraying)	20-35°C
Atomization air (bar)	1.8-2.2	Atomization air (bar)	1.8-2.2
Spray rate (ml/min)	300-500	Spray rate (ml/min)	200-500
Fluidization air volume	Varied to maintain product fluidization	Fluidization air volume	Varied to maintain product fluidization
Gun: 1.5 mm nozzle, triple head, middle port		Gun: 1.5 mm nozzle, triple head, bottom port	

- 5 Two sublots of the citric acid granulation (65 kg each) and one lot of the salmon calcitonin/surfactant granulation (48 kg) were prepared. Each sublot of citric acid was granulated under identical conditions by spraying a povidone binder solution onto a fluidized bed of citric acid and microcrystalline cellulose, then dried to less than 1% w/w moisture content. The citric acid granulations were highly granular, essentially lump-free, and free flowing. The salmon calcitonin/surfactant granulation was prepared by applying a solution of povidone and salmon calcitonin onto a bed of microcrystalline cellulose and lauroyl l-carnitine, and then the granulation was dried in the chamber to less than 2.5% w/w
- 10

WO 02/072075

PCT/US02/07197

25

moisture content. The resultant preparation was found to be a fine material with moderate flow properties. The particle size distribution densities of the three granulations are tabulated in Table 8.

5 Table 8: Particle size distributions and densities of first and second layer granulations manufactured using a pilot scale GPCG-60.

<u>First Layer granulation:</u>		<u>Screen Size</u>						
(CA)		20	40	60	80	100	140	PAN
Weight % retained, Sublot 1		0.7	14.1	54.1	20.8	3.6	4.4	2.1
Weight % retained, Sublot 2		1.9	9.8	38.3	20.7	6.1	9.1	14.0
Density Sublot 1: Loose - 0.43; Tapped - 0.60								
Density Sublot 2: Loose - 0.47; Tapped - 0.60								
<u>Second Layer granulation:</u>		<u>Screen Size</u>						
(salmon calcitonin/lauroyl L-carnitine)		20	40	60	80	100	140	PAN
Weight % retained		1.6	1.7	1.4	2.9	2.9	9.5	80.0
Density: Loose - 0.40; Tapped - 0.60								

All dried granulations were passed through a Comil (Quadro Engineering, Inc., Ontario, Canada) set at 500 RPM and equipped with a size 2F094R037/41 screen. Both citric acid granulations were blended together for 5 minutes at 15 RPM in a single step along with the delumped extragranular excipients in a 500 L Matcon Buls Bin blender. The salmon calcitonin/surfactant granulation was mixed with delumped silicon dioxide and croscarmellose sodium for 5 minutes at 15 RPM in a 250 L Matcon Buls Bin blender. Thereafter, the stearic acid lubricant was added to the mixture and blending continued for an additional 3 minutes. All blends flowed smoothly from the bins during discharge in their entirety.

A Key BBC-4 two layer rotary press was used to compress the final blends into oval-shaped, plain faced, two layer tablets (0.720 x 0.356 x 0.052) according to the guide listed in Table 5. The press was completely tooled with 35 stations and run at 18 RPM. Crushing strength was determined immediately after compression with a hardness tester. Individual layer weights remained consistent throughout the entire compression operation. No signs of any sticking problems were evident after prolonged compression of the two layer formulations.

Friability analysis of the tablet cores demonstrated that the tablets were highly resistant to chipping and/or fracture into the two separate layers (0.01% friability after four minutes of tumbling). Tablet cores were subsequently seal coated and enteric coated in a 48" Accela-Cota. The final enteric coated tablets were visually acceptable.

- 5 All tested tablet cores were seal coated using a hydroxypropylmethylcellulose coating system applied at a coverage level of 3% w/w followed by enteric coating with an Eudragit L30D-based (a methacrylic and methacrylate polymer) enteric coating dispersion containing 100 parts solid polymer, 20 parts triethyl citrate, and 10 parts talc (total 20% w/w solids content) applied at a target coverage level of 10% w/w. Coating operations were
- 10 accomplished using a Freund Hi-Coater Model HCT-30, Vector Corp., Marion, IA USA (< 1 kg cores) or a 24" Accela-Cota, Thomas Engineering, Inc., Hoffman Estates, IL, IA USA (> 6 kg cores), or a 48" Accela-Cota (> 90 kg cores) depending on the amount of tablet cores to be coated.

- 15 Although illustrated and described herein with reference to certain specific embodiments and examples, the present invention is nevertheless not intended to be limited to the details shown. Rather, the claims should be read to include various modifications within the scope and range of equivalents of the claims, without departing from the spirit of the invention.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

27

What is claimed is:

- 1 1. A pharmaceutical composition for oral delivery of a peptide
2 comprising:
3 a lamination having a first layer comprising at least one pharmaceutically acceptable
4 pH-lowering agent and a second layer comprising a therapeutically effective amount of a
5 peptide;
6 at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of said peptide;
7 and
8 an enteric coating surrounding said lamination.
- 1 2. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said second layer
2 further comprises said absorption enhancer.
- 1 3. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said composition
2 further comprises a water-soluble coating surrounding said lamination and positioned
3 between said lamination and said enteric coating.
- 1 4. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said enteric
2 coating is present at a weight which is no more than 20% of the weight of the remainder of
3 said composition excluding said enteric coating.
- 1 5. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said enteric
2 coating is present at a weight which is between 5-15% of the weight of the remainder of said
3 composition excluding said enteric coating.
- 1 6. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said absorption
2 enhancer is a surface active agent.
- 1 7. The pharmaceutical composition of claim 6, wherein said surface active
2 agent is absorbable or biodegradable.
- 1 8. The pharmaceutical composition of claim 6, wherein said surface active
2 agent is selected from the group consisting of acyl carnitines, phospholipids, and bile acids.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

28

- 1 9. The pharmaceutical composition of claim 6, wherein said surface active
2 agent comprises lauroyl L-carnitine.
- 1 10. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said peptide
2 comprises salmon calcitonin.
- 1 11. The pharmaceutical composition of claim 10, wherein said pH-
2 lowering agent is added in a quantity sufficient to lower the pH of 10 milliliters of a 0.1M
3 aqueous sodium bicarbonate solution to less than or equal to 5.5.
- 1 12. The pharmaceutical composition of claim 1, further comprising an
2 excipient.
- 1 13. The pharmaceutical composition of claim 12 wherein said excipient
2 comprises microcrystalline cellulose.
- 1 14. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein said pH lowering
2 agent comprises citric acid.
- 1 15. A method for enhancing the bioavailability of a peptide delivered
2 orally, said method comprising selectively releasing said peptide, together with at least one
3 pH-lowering agent and at least one absorption enhancer, into a patient's intestine following
4 passage of said peptide, pH-lowering agent, and absorption enhancer through said patient's
5 mouth and stomach under protection of an enteric coating and a water-soluble coating,
6 wherein:
7 said enteric coating substantially prevents contact between stomach proteases and said
8 peptide; and
9 said water-soluble coating substantially prevents contact between said pH-lowering
10 agent and said enteric coating.
- 1 16. The method of claim 15, wherein said pH-lowering agent is present in
2 said pharmaceutical composition in a quantity sufficient to lower the pH of 10 milliliters of a
3 0.1M aqueous sodium bicarbonate solution to less than or equal to 5.5.
- 1 17. A tableted dosage form for oral delivery of a peptide comprising:

WO 02/072075

PCT/US02/07197

29

- 2 a lamination having at least a first layer comprising at least one pharmaceutically
3 acceptable pH-lowering agent and a second layer comprising a therapeutically effective
4 amount of a peptide;
- 5 at least one absorption enhancer effective to promote bioavailability of said peptide;
6 and
- 7 a water-soluble coating formed over said lamination; and
- 8 an enteric coating formed over said water-soluble coating, wherein said water-soluble
9 coating substantially prevents contact between said pH-lowering agent and said enteric
10 coating.
- 1 18. The dosage form of claim 17, wherein said peptide comprises salmon
2 calcitonin.
- 1 19. The dosage form of claim 18, wherein said pH-lowering agent is
2 present in a quantity sufficient to lower the pH of 10 milliliters of a 0.1M aqueous sodium
3 bicarbonate solution to less than or equal to 5.5.
- 1 20. The dosage form of claim 17, wherein said pH-lowering agent
2 comprises citric acid.
- 1 21. The dosage form of claim 17, wherein said absorption enhancer
2 comprises lauroyl L-carnitine.
- 1 22. The dosage form of claim 17, wherein said water-soluble coating
2 comprises hydroxypropylmethylcellulose.
- 1 23. The dosage form of claim 17, wherein said enteric coating comprises a
2 polymer of methacrylic acid and methacrylate.
- 1 24. The dosage form of claim 17, wherein said first layer further
2 comprises a disintegrant.
- 1 25. The dosage form of claim 24, wherein said disintegrant comprises
2 croscarmellose sodium.

WO 02/072075

PCT/US02/07197

30

- 1 26. The dosage form of claim 17, wherein:
- 2 said peptide comprises salmon calcitonin;
- 3 said pH-lowering agent comprises citric acid present in a quantity sufficient to lower
- 4 the pH of 10 milliliters of a 0.1M aqueous sodium bicarbonate solution to less than or equal
- 5 to 5.5;
- 6 said absorption enhancer comprises lauroyl L-carnitine;
- 7 said water-soluble coating comprises hydroxypropylmethylcellulose;
- 8 said enteric coating comprises a polymer of methacrylic acid and methacrylate; and
- 9 said second layer further comprises croscarmellose sodium.
- 1 27. A method of making a dosage form comprising the steps of:
- 2 granulating a pH-lowering agent to form a first layer material;
- 3 combining a peptide and at least one absorption enhancer to form a second layer
- 4 material;
- 5 adding said first layer material to a die;
- 6 adding said second layer material to said die;
- 7 compressing said first and said second layer materials together to form a lamination
- 8 having two layers;
- 9 coating said lamination with a water-soluble coating to form a coated lamination; and
- 10 applying an enteric coating over said coated lamination to form a tablet, wherein said
- 11 water-soluble coating substantially prevents said first layer material from contacting said
- 12 enteric coating.
- 1 28. The method of claim 27, wherein said first layer material is partially
- 2 compressed before said second layer material is added to said die.

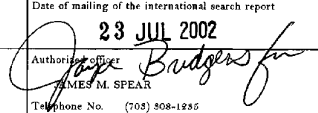
WO 02/072075

PCT/US02/07197

1 29. The method of claim 27, wherein the combining step further comprises
2 combining an excipient with said peptide and said absorption enhancer.

1 30. The method of claim 29, wherein said excipient comprises
2 microcrystalline cellulose.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/07197		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A01K 9/44, 9/32, 9/30 US CL : 999/472, 474, 475, 480, 482 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 426/472, 474, 475, 480, 482 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST: search terms: peptide, layer, tablet, calcitonin.				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
Y	US 5,912,014 A (STERN et al) 15 June 1999, see entire document.	1-30		
Y	US 5,614,219 A (WUNDERLICH et al) 25 March 1997, see abstract, column 5, lines 6-65, column 6, line 14, & lines 24-68, claims 1-3.	1-30		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 22 JUNE 2002		Date of mailing of the international search report 23 JUL 2002		
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 505-5250		Authorized officer  JAMES M. SPEAR Telephone No. (703) 508-1255		

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/24	A 6 1 K 47/24	
A 6 1 K 47/28	A 6 1 K 47/28	
A 6 1 K 47/36	A 6 1 K 47/36	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,P T,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 ジョージ・クロッツ
アメリカ合衆国18930ペンシルベニア州キントナーズビル、ギャローズ・ヒル・ロード241
8番

(72)発明者 アイザック・ゲーバー・セラシー
アメリカ合衆国07950ニュージャージー州モリス・プレインズ、メドー・ブラフ・ロード21
番

(72)発明者 アシュレシュ・シェス
アメリカ合衆国07869ニュージャージー州ランドルフ、クレスト・ドライブ14番

Fターム(参考) 4C076 AA45 BB01 CC30 DD03F DD13E DD15F DD25Z DD28A DD41C DD43Z
DD51F DD63F DD70F EE09J EE11J EE16A EE31A EE32B EE32H EE32J
EE48J FF04 FF06 FF25 FF43 FF61 FF65 FF68 GG14 GG16
4C084 AA03 BA44 DB31 MA05 MA35 MA52 NA03 NA10 ZA962 ZA972
ZC212