



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **330737**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 47/22 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20063135	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2004.12.02 PCT/US2004/40313
(22)	Inng.dag	2006.07.06	(85)	Videreføringsdag	2006.07.06
(24)	Løpedag	2004.12.02	(30)	Prioritet	2003.12.08, US, 60/527,728
(41)	Alm.tilgj	2006.09.08			
(45)	Meddelt	2011.06.27			
(73)	Innehaver	CPEX Pharmaceuticals Inc, 2 Holland Way, US-NH03833 EXETER, USA			
(72)	Oppfinner	Robert J Gyurik, 12 Ashbrook Road, US-NH03833 EXETER, USA			
		Carl Reppucci, 14 Bucklin Road, US-MA01845 NORTH ANDOVER, USA			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Farmasøytisk preparat inneholdende insulin egnet for nasal tilførs			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 87/03473 A1, WO 03/000158 A1			
(57)	Sammendrag				

Preparater og fremgangsmåter for behandling av en pasient med insulin som forener insulin, et gjennomtrengende forsterkende middel og en bærer som har en sur pH er beskrevet.

Denne oppfinnelsen vedrører sammensetninger for tilførsel av insulin, og mer spesielt tilførsel av insulin på annen måte enn injeksjon, gjennom nasale membraner, og produkter som inneholder nevnte sammensetninger.

- 5 Insulin benyttes generelt for å behandle pasienter som lider av diabetes. Insulin tilføres generelt til en pasient ved injeksjon.

US patent 5.023.252 beskriver et preparat for tilførsel av insulin ved en annen rute enn injeksjon. Mer spesielt beskriver dette patentet anvendelsen av sammensetninger som
10 inkluderer permeasjonsforsterkere/gjennomtrengende forsterkningsmidler for tilførsel av insulin gjennom hud og membraner i kroppshulrom uten å nødvendiggjøre en injeksjon.

WO 87/003473 og WO 03/000158 vedrører sammensetninger som inkluderer
15 gjennomtrengende forsterkningsmidler for avlevering av fysiologisk aktive midler gjennom kroppsmembraner.

Den foreliggende oppfinnelsen er rettet på en forbedring av slike sammensetninger.

20 I henhold til oppfinnelsen tilveiebringes et farmasøytisk preparat for nasal tilførsel som omfatter: (A) insulin; (B) et gjennomtrengende forsterkningsmiddel som beskrevet nedenfor; og (C) en flytende bærer der preparatet er ved en sur pH. Det farmasøytiske preparatet er nærmere definert nedenfor og i krav 1.

25 Søkeren har funnet at når et preparat som inneholder en kombinasjon av insulin og gjennomtrengende forsterkningsmiddel benyttes, oppnås forbedrede resultater når preparatet er ved en sur pH.

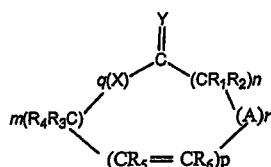
Det foreslås å behandle en pasient som har behov for insulin med en kombinasjon av
30 insulin, et gjennomtrengende forsterkningsmiddel, og en flytende bærer; kombinasjonen har en sur pH på ikke høyere enn 4,5. Fortrinnsvis er pH i preparatet ikke høyere enn 4 eller under 2. pH er fortrinnsvis minst 2.

Generelt er pH i preparatet minst 2 og ikke høyere enn 4,5. En foretrukket utførelses-
35 form er pH ikke høyere enn 4. Et foretrukket pH-område er fra 2,5 til 3,8. Ved en foretrukket utførelsesform er pH omtrent 3.

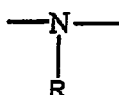
pH i preparatet kan vedlikeholdes ved bruk av en egnet buffer. Valget av en buffer for å vedlikeholde den ønskede pH å være innenfor omfanget av hva som er kjent for en fagmann på området basert på det som her er angitt. Som representativ eksempler på egnede buffere kan nevnes sitronsyrebuffer, fosfatbuffer og lignende, som er i vanlig bruk og
5 også egnet for medisinske formuleringer.

Når gjennomtrengende forsterkningsmidler benyttes, er det generelt et som forsterker gjennomtrengningen av insulinpreparatet gjennom slimhinnen i nesen.

- 10 I en sammensetning som inneholder en effektiv mengde av insulin er det gjennomtrengende forsterkningsmiddel en forbindelse med strukturen:



- 15 der X og Y er oksygen, svovel eller en imingruppe med strukturen



- eller =N-R med det forbehold at når Y er en imingruppe, så er X en imingruppe, og når
20 Y er svovel, så er X svovel eller en imingruppe, A er en gruppe med strukturen



- der X og Y er som definert over, m og n er hele tall med en verdi fra en til 20 og summen av m+n er ikke større en 25, p er et helt tall med en verdi på 0 eller 1, q er et
25 helt tall med en verdi på 0 eller 1, r er et helt tall med en verdi på 0 eller 1, og hver av R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ og R₆ er uavhengig av hverandre i hydrogen eller en alkylgruppe med fra 1 til 6 karbonatomer som kan være rettkjedet eller forgrenet forutsatt at kun en av R₁ til R₆ kan være en alkylgruppe, med det forbehold at når p, q og r har en verdi på 0 og Y er oksygen, så er m+n minst 11, og med det ytterligere forbehold at når X er en imin-
30 gruppe, q er lik 1, Y er oksygen, og p og r er 0, så er m+n minst 11, og den nevnte forbindelse vil forsterke gjennomgangshastigheten for legemidlet gjennom kroppsmem-

braner. Heretter refereres disse forbindelsene til som forsterkningsmidler. Når R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ eller R₆ er alkyl, kan det være metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl, amyl, heksyl og lignende. Slike gjennomtrengende forsterkningsmidler er beskrevet i US patent 5.023.252 og US patent 5.731.303.

5

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er fortrinnsvis sykliske laktoner (forbindelsene er både X og Y er oksygen, (q er 1 og r er 0), sykliske diestere (forbindelsene der både X og Y er oksygen, og både q og r er 1), og sykliske ketoner (forbindelsene der både q og r er 0 og Y er oksygen). I de sykliske diestrene er m+n fortrinnsvis minst 3. I de sykliske ketonene er m+n fortrinnsvis fra 11 til 15 og p er fortrinnsvis 0.

10

Forsterkningsmidler med strukturformen over refereres her til som "Hsieh forsterkningsmidler" og er beskrevet for eksempel i de nevnte US patent nr. 5 023 252 og 5 731 303 (heretter "Hsieh patenter"). Slike forsterkningsmidler er lipofile og er "membran-kompatible", hvilket betyr at de ikke forårsaker skade på membranen hvorpå preparatet ifølge den foreliggende oppfinnelsen påføres (heretter "target membran"). Slike forsterkningsmidler frembringer også et lavt nivå av irritabilitet eller ikke irritabilitet på målmembranen og, tjener faktisk som ett bløtgjørende middel.

15

Foretrukne forsterkningsmidler for anvendelse i den foreliggende oppfinnelsen er makrosykliske forsterkningsmidler. Betegnelsen "makrosyklisk" slik den her er benyttet henviser til sykliske forbindelser med minst 12 karbonatomer i ringen. Eksempler på foretrukne makrosykliske forsterkningsmidler for anvendelse i den foreliggende oppfinnelsen inkluderer: (A) makrosykliske ketoner, for eksempel 3 metylsyklopentadekanon (muskon), 9-sykloheptadecen-1-on (civeton), sykloheksadekanon, og syklopentadekanon (normuskon); og (B) makrosykliske estere, for eksempel pentadekalaktoner slik som oksasykloheksadekan-2-on (syklopentadekanlid, ω-pentadekalakton).

25

Oksasykloheksadekan-2-on og syklopentadekanon er spesielt foretrukne.

30

Forsterkningsmidlet foreligger i preparatet i en konsentrasjon som er effektiv for å forsterke gjennomtrengning av insulinet, som skal tilføres, gjennom membranen. Forskjellige vurderinger bør tas med i betraktningen ved bestemmelse av mengden av forsterkningsmiddel som skal benyttes. Slike vurderinger inkluderer for eksempel mengden av fluks (gjennomgangshastigheten gjennom membranen) som oppnås og stabiliteten og kompatibiliteten av komponentene i formuleringene. Forsterkningsmidlet benyttes generelt i en mengde på omtrent 0,01 til omtrent 25 vekt-% av preparatet, mer

35

generelt i en mengde på omtrent 0,1 til omtrent 15 vekt-% av preparatet, og ved foretrukne utførelsesformer i en mengde på omtrent 0,5 til omtrent 15 vekt-% av sammensetningen.

- 5 Den flytende bæreren foreligger i preparatet i en konsentrasjon som er effektiv til å tjene som et egnet bindemiddel for preparatet ifølge den foreliggende oppfinnelsen. Bæreren benyttes generelt i en mengde på omtrent 40 til omtrent 98 vekt-% av sammensetningen og ved foretrukne utførelsesformer i en mengde på omtrent 50 til omtrent 98 vekt-% av preparatet.

10

Insulinpreparatene ifølge den foreliggende oppfinnelsen tilføres fortrinnsvis som en neseppray. Ved en slik utførelsesform er den foretrukne flytende bæreren vann der insulinet er dispergert eller oppløst i vannet i en terapeutisk effektiv mengde.

- 15 Ved en foretrukket utførelsesform er det gjennomtrengende forsterkningsmidlet emulgert i den vandige fasen som inneholder insulinet. Emulgeringen kan bevirkes ved bruk av en eller flere egnete surfaktanter. Utvelgingen av en egnet surfaktant er innenfor kunnskapen til en fagmann på området basert på det som her er beskrevet. I det alt vesentlige kan enhver egnet surfaktant eller blanding av surfaktanter benyttes i utøvelsen av den
- 20 foreliggende oppfinnelsen, inkludert for eksempel anioniske, kationiske og ikke ioniske surfaktanter. Foretrukne surfaktanter er ikke ioniske surfaktanter, der de som har en hydrofil-lipofil balanse (HLB) på fra omtrent 7 til omtrent 14 er særlig foretrukne. Eksempler på slike ikke-ioniske surfaktanter er PEG-60 maisglyserider, PEG-20 sorbitanmonosterat, fenoksy-poly(etylenoksy)etanol, sorbitanmonooleat og lignende.
- 25 Spesielt foretrukket er kompendiesurfaktanter slik som de som er beskrevet i kompendier slik som "the Food Chemicals Codex, National Formulary, U.S. Pharmacopeia, og the Code of Federal Regulations". Det er foretrukket at den gjennomsnittlige diameteren til dråpene i emulsjonen er fra omtrent 500 nm til omtrent 20 μm og mer foretrukket fra omtrent 1 μm til omtrent 10 μm . Generelt foreligger surfaktanten i en mengde som ikke
- 30 er høyere enn omtrent 2 vekt-% av preparatet og mer generelt ikke høyere enn omtrent 0,5 vekt-% av preparatet.

- Ved en foretrukket utførelsesform er den emulgerte eller diskontinuerlige fasen som inneholder det gjennomtrengende forsterkningsmidlet på formen av dråper. Generelt gir
- 35 mindre dråper høyere stabilitet. Større dråper kan forårsake ustabilitet og reduserer holdbarheten. Ved en foretrukket utførelsesform strekker dråpestørrelsen seg fra 0,1 μm til 20 μm og fortrinnsvis fra 0,1 μm til 5 μm .

Sammensetninger som inneholder insulin lagres generelt i et kjøleskap og slik kjøling kan resultere i krystallisasjon av det gjennomtrengende forsterkningsmidlet. For å hemme eller forhindre slik krystallisasjon inkluderer preparatet i en foretrukket utførelsesform en eller flere krystallisasjonsinhibitorer for å hemme krystallisasjonen av det gjennomtrengende forsterkningsmidlet. Krystallisasjon gjør at, dersom den får mulighet til å utvikles, emulsjonen blir ustabil og har en ugunstig effekt på holdbarhet. Foretrukne krystallisasjonsinhibitorer virker ved å senke temperaturen hvorved den involverte forbindelsen krystalliseres. Eksempler på slike krystallisasjonsinhibitorer inkluderer naturlige oljer, oljeaktige substanser, voks, estere og hydrokarboner. Eksempler på naturlige oljer eller oljeaktige substanser inkluderer vitamin E acetat, oktylpalmeat, sesamfrøolje, soyaolje, safflorolje, avakadoolje, palmeolje, og bomullsfrøolje. Utvelgingen av en egnet krystallisasjonsinhibitor er innenfor kunnskapen til en fagmann på området utifra det som her er beskrevet. Foretrukne krystallisasjonsinhibitorer virker ved å senke temperaturen hvorved det gjennomtrengende forsterkningsmidlet krystalliseres.

Inhibitorer som er i stand til å senke krystallisasjonstemperaturen til den involverte forbindelsen til under omtrent 25°C er særlig foretrukne, der de som er i stand til å senke krystallisasjonen til den involverte forbindelsen til under omtrent 5°C er spesielt foretrukne. Eksempler på spesielt foretrukne krystallisasjonsinhibitorer for bruk ved hemming av krystallisasjonen av oktasykloheksadekan-2-on inkluderer heksadekan, isopropylmyristat, oktylpalmitat, bomullsfrøolje, safflorolje og vitamin E acetat, der hver av disse kan anvendes i farmasøytiske preparater.

Krystallisasjonsinhibitoren foreligger i preparatet i en konsentrasjon som er effektiv for å hemme krystallisasjonen av det gjennomtrengende forsterkningsmidlet. Krystallisasjonsinhibitoren foreligger generelt i en mengde på omtrent 0,001 til omtrent 5 vekt-% av preparatet, mer generelt i en mengde på fra omtrent 0,01 til omtrent 2 vekt-% av preparatet. Ved en utførelsesform foreligger krystallisasjonsinhibitoren i en mengde på fra omtrent 0,01 til omtrent 1 vekt-% av preparatet. Krystallisasjonsinhibitoren er en som fortrinnsvis benyttes når forsterkningsmidlet har en krystallisasjonstemperatur på omtrent 0°C. I særdeleshet benyttes fortrinnsvis for eksempel en krystallisasjonsinhibitor når forsterkningsmidlet er pentadecalakton og/eller sykloheksadekanon, siden disse krystalliserer over romtemperatur.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre et produkt kjennetegnet ved at det omfatter en nesesprayapplikator, intranasal spraydoseringsinnretning, eller finfordelingsapparat som inkluderer et farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene.

- 5 Preparatet ifølge den foreliggende oppfinnelsen tilføres generelt gjennom en nesesprayapplikator. Dersom intranasal applikasjon er ønskelig, kan preparatet anbringes i en intranasal spraydoseringsinnretning eller finfordelingsapparat/sprayflaske og benyttes ved spraying av det inn i neseborene til en pasient for tilførsel til slimhinnemembranen i neseborene. En tilstrekkelig mengde påføres for å oppnå de ønskede systemiske eller
- 10 lokaliserte legemiddelnivåene. For en intranasal spray påføres typisk opp til omtrent 200 mikroliter, der en applikasjon av omtrent 50 til omtrent 150 mikroliter er foretrukket. En eller flere nesebor kan doseres og applikasjon kan forekomme så ofte som ønskelig eller så ofte som nødvendig. Ved en foretrukken utførelsesform er nesesprayapplikatoren valgt for å frembringe dråper av preparatet på en gjennomsnittlig størrelse
- 15 på omtrent 10 μm til omtrent 200 μm . Mer generelt er dråpestørrelsen fra omtrent 30 μm til omtrent 100 μm .

- Insulinspraypreparatet ifølge oppfinnelsen benyttes generelt i et doseringsregime som er avhengig av pasienten som behandles. Frekvensen av bruk og mengden av dosen kan
- 20 således variere fra pasient til pasient. Generelt er dosering med mengde (mengden som taes inn etter absorpsjonen fra slimhinnen) på fra omtrent 3 IU til omtrent 15 IU og dosefrekvensen er 3 til 4 ganger pr. dag. Som kjent innenfor fagområdet varierer behandlingen av en sykdom slik som diabetes via insulinterapi fra pasient til pasient, og basert på kjent insulinterapi og det som her er beskrevet kan en fagmann på området
- 25 velge doseregime og dosering for en bestemt pasient eller pasienter.

- Preparatet ifølge den foreliggende oppfinnelsen innbefatter insulin. Insulinet finnes i preparatet i en terapeutisk effektiv mengde. Generelt foreligger preparatet i en mengde på omtrent 0,01 til omtrent 15 vekt-% av preparatet, mer generelt en mengde på omtrent
- 30 0,01 til omtrent 10 vekt-% av preparatet. Ved en utførelsesform foreligger insulinet i en mengde fra omtrent 0,1 til omtrent 5 vekt-% av preparatet.

- Selv om en foretrukket utførelsesform er et preformulert preparat, er det også innenfor omfanget av den foreliggende oppfinnelse at en pasient kan bli behandlet med det oven-
- 35 for beskrevne preparatet som ikke er preformulert; det vil si insulinet i flytende bærer og forsterkningsmidlet kan blandes ved applikasjonstidspunktet, slik at blandingen forekommer i en sprayflaske ved tidspunktet når preparatet blir sprayet.

Eksemplene illustrerer foretrukne utførelsesformer ifølge oppfinnelsen og skal ikke anses som begrensende.

5

EKSEMPEL 1

Fire separate vandige insulinemulsjoner ifølge den foreliggende oppfinnelsen (formulering A, B, C og D) fremstilles i henhold til formuleringene som er beskrevet i tabellen nedenfor. Komponent CPE-215 er en forbindelse som søkeren har eiendomsrett til og er også kjent som syklopentadekanolid; den letter migreringen av insulin gjennom den nasale slimhinnen.

10

	Insulinformulering for griseforsøk			
Kode:	A	B	C	D
Reagens	%	%	%	%
Insulin	0,1	1,0	1,0	1,0
CPE-215	-	2,0	2,0	2,0
Bomullsfrøolje	-	1,0	1,0	0,7
Glyserin	-	-	-	2,0
Sorbitanlaurat (a.k.a. Krill 1; en surfaktant)	-	0,6	0,6	-
Polysorbat 20 (a.k.a. Krillet 1: en surfaktant)	-	0,7	0,7	-
Pemulen TR2	-	-	-	0,1
H ₂ O	99,1	94,3	93,2	93,7
TEA	-	-	-	0,5
HCl (5N)	-	-	1,3	-
NaOH (1N)	-	-	1,3	-
Sitronsyre (1H ₂ O)	0,6	0,3	-	-
Natriumsitrat (2H ₂ O)	0,2	0,1	-	-
Benzalkoniumklorid	-	-	-	0,003
	100	100	100	100
pH:	3,19	3,53	7,32	8.07

EKSEMPEL 2

5

C-peptid blodnivåer kan indikere om en person produserer insulin eller ikke og tilnærmet hvor mye. Insulin syntetiseres initielt i bukspyttkjertelen som proinsulin. På denne formen er alfa- og bettakjeder av aktivt insulin bundet ved en tredje polypeptidkjede kalt det sammenbindende peptid, eller C-peptid som forkortelse. Fordi både insulin og C-peptid molekyler utskilles er det et C-peptid for hvert insulinmolekyl i

10

blodet. C-peptid-nivået i blodet kan derfor måles og benyttes som en indikator på insulinproduksjon ved de tilfeller der eksogent insulin (fra injeksjon) finnes og blandes med endogent insulin (det som produseres av kroppen) hvilket er en situasjon som ville gjøre en måling av insulin inn i seg selv meningsløs. C-peptidtesten kan også benyttes
 5 for å hjelpe til å vurdere om høyt blodglukose skyldes redusert insulinproduksjon eller redusert glukoseinntak av cellene. Det er lite eller intet C-peptid i blodet hos type 1 diabetikere, og C-peptidnivåer type 2-diabetikere kan reduseres eller være normalt. Konsentrasjonene av C-peptid hos ikke-diabetikere er i størrelsesorden fra 0,5-3,0 ng/ml.

10

En evaluering av preparatene ifølge denne oppfinnelsen ble utført *in vivo* som beskrevet nedenfor.

Farmakokinetikk og farmakodynamikk hos

15

Yucatan minigris ved intranasal CPE-215/ insulinformuleringer

Dette studiet ble utført i henhold til NIH "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" og den "Federal animal Welfare Act", etterfulgt av en protokoll godkjent av "the University og New Hampshire Institutional Animal Care and Use Committee".
 20 Dette studiet hadde som formål å evaluere og karakterisere en farmakokinetiske og farmakodynamiske effektiviteten av insulinformuleringer etter intranasal tilførsel til Yucatan minigriser.

Tidligere hadde det blitt bestemt hos beagler (Hsieh, 1993), at syklopentadekanolid
 25 letter migreringen av insulin gjennom slimhinnene i nesen. For å verifisere dette hos minigris, som et trinn mot evaluering av friske frivillige mennesker, ble formuleringer vurdert med hensyn på insulinblodnivåer og glukodynamikk.

Materialer, metoder og formuleringer

30

Formuleringene som ble testet var vandige insulinemulsjoner, som inneholdt humant rekombinant insulin av farmasøytisk kvalitet, fra Diosynth, Inc., en avdeling av Akzo Nobel, Inc. Disse formuleringene varierte noe i preparat; imidlertid inneholdt hvert insulin ved 1 % vekt/vekt, og CPE-215 ved 2% vekt/vekt. Disse formuleringene ble
 35 tildelt fra intranasale nesepprayflasker, utviklet for mennesker av Valois of America. To innpust på 100 mikroliter hver ble tildelt til griser som tidligere hadde fått innført kanyle med et iboende halsblodårekateter. Hver 100 mikroliters spray tildelte 1

milligram, eller tilnærmet 25 IU insulin. En utvidelse til utløseren ble benyttet, og så tilveiebrakt av Valois of America, behovet for denne (for å tilføre formulering til den absorberende overflaten av vestibyle og labyrintinturbinatregionen) var bestemt i et preliminært pilotstudie. Den samme utløseren, som tildeler 100 mikroliter, ble benyttet med utvidelsen vedheftet. Disse intranasalt tilførte dosene ble sammenlignet med tre enheter av insulin administrert subkutan (SQ) som en positiv kontroll.

Dyreprotokoll

10 Fire hunn Yucatan miniatyrsvin (griser) ble skaffet fra "the UNH Miniature Swine Research Farm). Under studiet ble grisene holdt i et miljøkontrollert forsøksdyrerom (temperatur 25+/-2°C og 12 timer lys/mørke syklus), Føret med kommersielt forsøksgrisefôr, og holdes fri tilgang til vann til alle tider. Grisene var 21 uker gamle Yucatan hunndyr:

15

Gris # 1, merke 121-5; vekt ved start av studie: 16,8 kg; DOB 11/26/02

Gris # 2, merke 121-4; vekt ved start av studie: 22,3 kg; DOB 11/26/02 (bemerkning: #1 og #2 er fra samme kull)

Gris #3, merke 122-7; vekt ved start av studie: 18,3 kg; DOB 12/1/02

20 Gris #4, merke 122-9; vekt ved start av studie: 15,5 kg; DOB 12/1/02 (bemerkning: #3 og #4 er fra samme kull).

Karakteriseringsmetodologi

25 Dyrene ble forberedt til studie med kirurgisk implantering av et halsblodårekateter 4 til 6 dager før studiestart. Etter tung behandling med beroligende midler med en intramuskulær dose av xylazin og ketamin, ble dyrene maskert ned og holdt dypt kirurgisk bedøvelse med inhalering av isofluoranbedøvelsesmiddel og oksygen. Med dyrene i tilbakelent stilling på ryggen, ble et innsnitt i huden gjort i den høyre halsblodårefuren og etterfulgt av dempet disikring av det subkutane og perivaskulære forbindende vevet for å eksponere den høyre halsvenekranial for brystinnløpet. En lengde på 1,27 mm (0,050 tommer) bor Tygon® intravenøs kateterslange ble innsatt gjennom et smalt innsnitt i den klemte venen og posisjonert som en hale inn i den foranliggende vena cava (tilnærmet 12 til 15 cm fra halsblodåreinnsnittet). Kateteret ble festet til venen og dyp subkutan vevssutur. Halsvenekranial til kateteret ble ombundet med polypropylensutur. Den frie enden av kateteret ble ført med dempet disikring gjennom underhuden til den interskapulære ryggen, trukket gjennom et lite hudinnsnitt, og festet til huden med

polypropylensutur. Kateteret ble satt lokk på med en sprøytesammenkoblingsinnretning og fylt med et antitrombotisk preparat. Det antitrombotiske midlet besto av 60 % (vekt/volum) polyvinylpyrrolidon (10.000 molekyllvekt, PVP-10) og fysiologisk salt-oppløsning/natriumheparin (50.000 enheter heparin pr. 100 mL). Underhud- og hudinn-
 5 snittet i halsfuren ble lukket med henholdsvis syntetiske absorberbare og polypropylen-suturer. Dyrene ble bandasjert på en komfortabel måte for å beskytte kateteret og hud-innsnittet og dekt med en vest lagd for hundekateterarbeid. Intramuskulær butorfanol ble administrert som et smertestillende middel umiddelbart og 12 timer etter kirurgi.

10 Studiedesign

Ved dosetidspunktet ble grisene holdt igjen i en tekstilstropp. Grisene var etterpå frie til å bevege seg rundt sine respektive individuelle innhegninger og ble kun forbigående holdt igjen i lukkede kvaterer ved inngangen i innhengningen med en treport som kan
 15 fjernes ved blodprøvetidspunktet. Hver gris ble gitt dose to ganger med hver av de fire forskjellige formuleringene i løpet av en to ukers periode med minst 18 timer mellom behandlingene. Den intranasale doseringen (formulering B, C og D) medførte tildeling av 100 µL av en 1% insulinemulsjon gjennom en aerosoldoseringsinnretning (human type intranasal utløser), en gang pr nesebor (totaldose 50 IU), eller subkutan dosering
 20 (formulering A), 120 µl av en 0,1 % bufret steril løsning ved å benytte en 1 cc steril sprøyte (3 IU) utstyrt med en 22 ga. nål. Doseringsintervaller mellom griser ble timet og var tilnærmet 5 minutter.

Grunnlinjeprøver av venøst blod ble tatt rett før intranasal eller SQ insulinadministrering, og blodprøver ble deretter tatt ved 0 (rett før behandling), 15, 30, 45, 60, 90, 120 og
 25 180 minutter etter applikasjon. Blødning var tilnærmet fem minutter fra hverandre mellom griser, intervallet ble regulert relativt til doseringstiden i løpet av ett minutt av targettid. Hver gris ble kontrollert med et håndholdt kommersielt glukometer ved hver blodprøveuttak for å sikre at dyret hadde det bra.

30

Blodprøven ble tatt i natriumhepariniserte glassrør. Plasma ble gjenvunnet og lagret ved -20°C inntil analyse for insulin, C-peptid og glukose. Det var 8 dager med behandling, der hver av de fire grisene ble behandlet hver dag. Grisene ble krysset ut (to suksessive identiske latinkvadrater) der hver gris mottok en forskjellig behandling hver dag, i hen-
 35 hold til den følgende planen:

Behandlingsplan

	<u>D=dag</u>	<u>P: Gris</u>	<u>Behandlinger</u>
	D1=3/25/03	P1=Gris 121-5	A= subkutan 120 µL (3IU)
5	D2=3/26/03	P2=Gris 121-4	B= IN Form. 013-44-2 pH 3,5
	D3=3/27/03	P3=Gris 122-7	C= IN Form. 013-44-3 pH 7,32
	D4=3/28/03	P4=Gris 122-9	D= IN Form. 013-45 pH 8,0
	D5=4/1/03		
	D6=4/2/03		
10	D7=4/3/03		
	D8=4/4/03		

Behandlinger/dager

Dager	Gris 1	Gris 2	Gris 3	Gris 4
1	A	B	C	D
2	B	C	D	A
3	C	D	A	B
4	D	A	B	C
5	A	B	C	D
6	B	C	D	A
7	C	D	A	B
8	D	A	B	C

15

Prøvetaking og analysemetoder

- Heparinisert plasma ble analysert med hensyn på insulinkonsentrasjon ved å benytte en kommersiell RIA analyse for insulin (Linco research, Inc.; Human Insulin Specific RIS Kit, Cat# HI-14k). Insulin ble rapportert i Micro International Units / militær av plasma (µU/mL). C-peptid ble analysert med et kommersielt kit som er spesifikt for porcin C-peptid (Linco research, Inc.; Porcin C-peptid RIA Kit, Cat# PCP-22K) og rapportert i enheter på ng/mL.
- Glukose ble målt ved prøvetaking ved å benytte et glukometer (Lifescan (J&J) One Touch Fast Take™), og laboratoriet benyttet en kommersiell enzymatisk analyse (Sigma Diagnostics, Procedure 315) og ble målt i mg/dL.

Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokoll.

5 Resultater for glukose

Resultatene viste god reduksjon i blodglukoseverdier, som målt i blod ved den hekso-kinaseenzymatiske metoden, og er historisk i samsvar med denne positive kontrollen, SQ insulin; SQ-dosen nådde et minimum glukosenivå ved et gjennomsnitt på 30
 10 minutter etter reaksjon. For intranasal formulering B, ble fortreffelig glukodynamisk reduksjon observert med en hurtigere start, 15 minutter eller hurtigere til gjennom, men med kortere varighet (90-120 min) enn SQ (180 min.). Formulering C hadde en lignende hurtig start som B, men i mindre størrelsesorden. Formulering D var blottet for merkbart glukodynamisk aktivitet. Reproduserbarheten, både intradose og dag til dag,
 15 var god (ingen forandringer for noen behandling skilte seg merkbart, $P < 0,05$). (Se figur 1).

Den enzymatiske glukoseanalysen korrelerte godt med de tilsvarende glukometer resultatene utført ved blodprøve uttakstidspunktet ($r=0,9575$; $p<0,0001$).

20

Resultater for insulin

Resultatene viste gode insulinblodnivåer for formulering A, SQ positiv kontroll, med den gjennomsnittlige verditopp ved 15 minutter med en gjennomsnittlig C_{maks} på 59,85
 25 $\mu\text{U/mL}$. (Se figur 2).

Formulering B viste mye høyere blodnivåer enn noen andre formuleringer, topp ved 15 minutter med en gjennomsnittlig C_{maks} på 182,4 $\mu\text{U/mL}$. (Se figur 2). Formulering C viste lavere blodnivåer enn både A eller B, hvilket indikerer redusert
 30 tilførsel av insulin ved fysiologisk pH sammenlignet med den sure formen, med en C_{maks} på 64,59 $\mu\text{U/mL}$ ved 15 minutter. (Se figur 2).

Formulering D viste liten forandring over grunnlinjenivåer. Ingen C_{maks} ble observert. (Se figur 2).

35

Resultater for C-peptid

C-peptid for faste, ubehandlede dyr (tid 0) ga gjennomsnitt på 0,35 ng/mL (n=36). Ved virkningsstart av de fire behandlingene var de lignende med de respektive kurvene opp-
5 nådd for glukodynamikken. Behandling B har en hurtigere senkingsstart av C-peptid etterfulgt av A, deretter C, deretter D. Behandling A hadde den lengste senkingen av C-peptid, tilnærmet 3 timer, mens de andre behandlingene hadde normale nivåer ved dette tidspunktet, hvilke reflekterer gjennoptakelse av endogen insulinproduksjon.

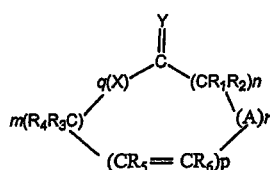
P a t e n t k r a v

1.

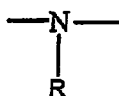
Farmasøytisk preparat på en form som er egnet for nasal tilførsel til en pasient,

5 k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter: en terapeutisk effektiv
mengde av insulin, et gjennomtrengende forsterkende middel, en flytende bærer; der det
nevnte preparatet er ved en sur pH, men ikke høyere enn pH på 4,5, og nevnte gjennom-
trengende forsterkende middel er et Hsieh forsterkningsmiddel med den følgende
strukturen:

10



der X og Y er oksygen, svovel eller en imingruppe med strukturen



15

eller =N-R med det forbehold at når Y er en imingruppe, så er X en imingruppe, og når
Y er svovel, så er X svovel eller en imingruppe, A er en gruppe med strukturen



20

der X og Y er som definert over, m og n er et helt tall med en verdi fra 1 til 20 og
summen av m+n er ikke større enn 25, p er et helt tall med en verdi på 0 eller 1, q er et
helt tall med en verdi på 0 eller 1, r er et helt tall med en verdi på 0 eller 1, og hver av R,
25 R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ og R₆ er uavhengig av hverandre hydrogen eller en alkylgruppe med
fra 1 til 6 karbonatomer som kan være rettkjedet eller forgrenet forutsatt at kun en av R₁
til R₆ kan være en alkylgruppe, med det forbehold at når p, q og r har en verdi på 0 og Y
er oksygen, så er m+n minst 11, og med det ytterligere forbehold at når X er en
imingruppe, q er lik 1, Y er oksygen, og p og r er 0, så er m+n minst 11.

30

2.

Farmasøytisk preparat ifølge krav 1, der nevnte sure pH er på fra 2 til 4.

3.

5 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, som ytterligere omfatter en krystallisasjonsinhibitor.

4.

10 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, der nevnte preparat er på formen av en emulsjon der Hsieh forsterkningsmidlet er emulgert i en vandig fase som inkluderer insulinet.

5.

15 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, der nevnte Hsieh forsterkningsmiddel er et makrosyklisk gjennomtrengende forsterkningsmiddel.

6.

20 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, der nevnte Hsieh forsterkningsmiddel er syklopentadekalakton eller sykloheksadekanon.

7.

25 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, der nevnte gjennomtrengende forsterkningsmiddel er emulgert i den nevnte vandige fase med en surfaktant som har en HLB på fra 7 til 14.

8.

30 Farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, som videre omfatter en krystallisasjonsinhibitor som er i stand til å senke krystallisasjonstemperaturen til nevnte gjennomtrengende forsterkningsmiddel til under 25°C.

9.

35 Farmasøytisk preparat ifølge krav 8, der nevnte krystallisasjonsinhibitor er i stand til å senke krystallisasjonstemperaturen til nevnte gjennomtrengende forsterkningsmiddel til under 5°C.

10.

Farmasøytisk preparat ifølge krav 9, der nevnte krystallisasjonsinhibitor er valgt fra gruppen bestående av naturlige oljer, oljeaktige substanser, voks, estere og hydrokarboner.

5

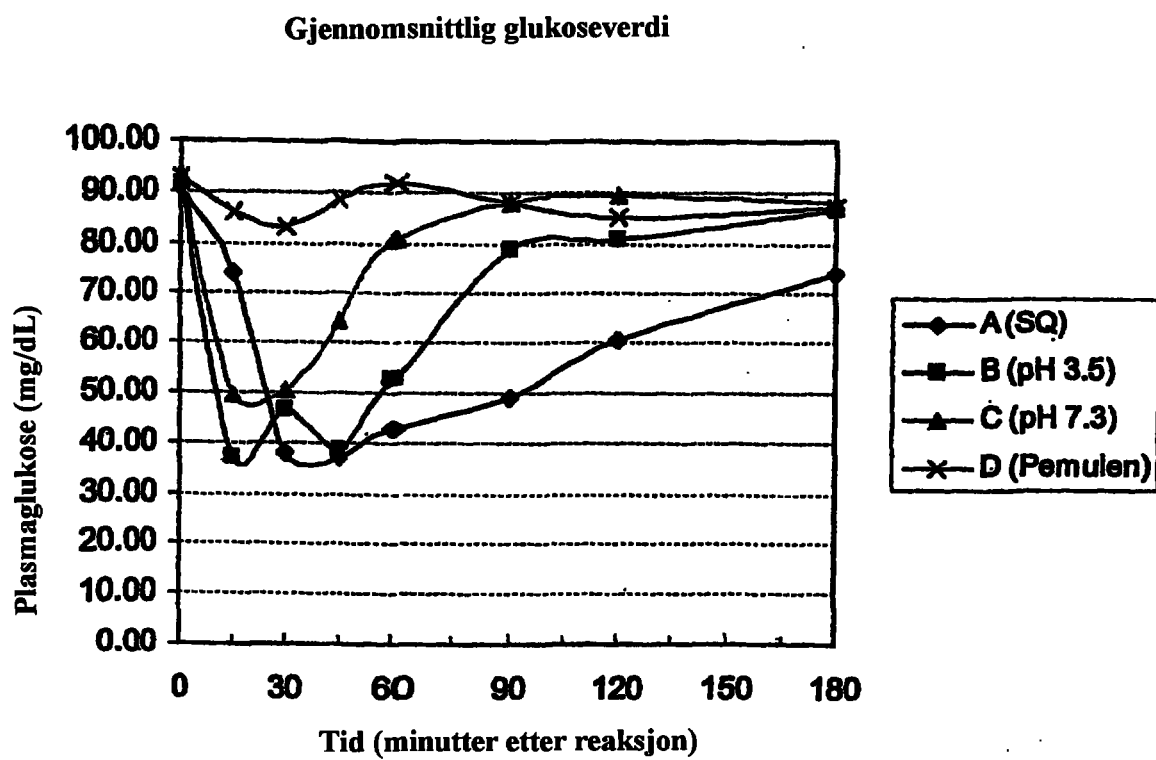
11.

Farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, for bruk i en fremgangsmåte for å behandle en pasient med insulin.

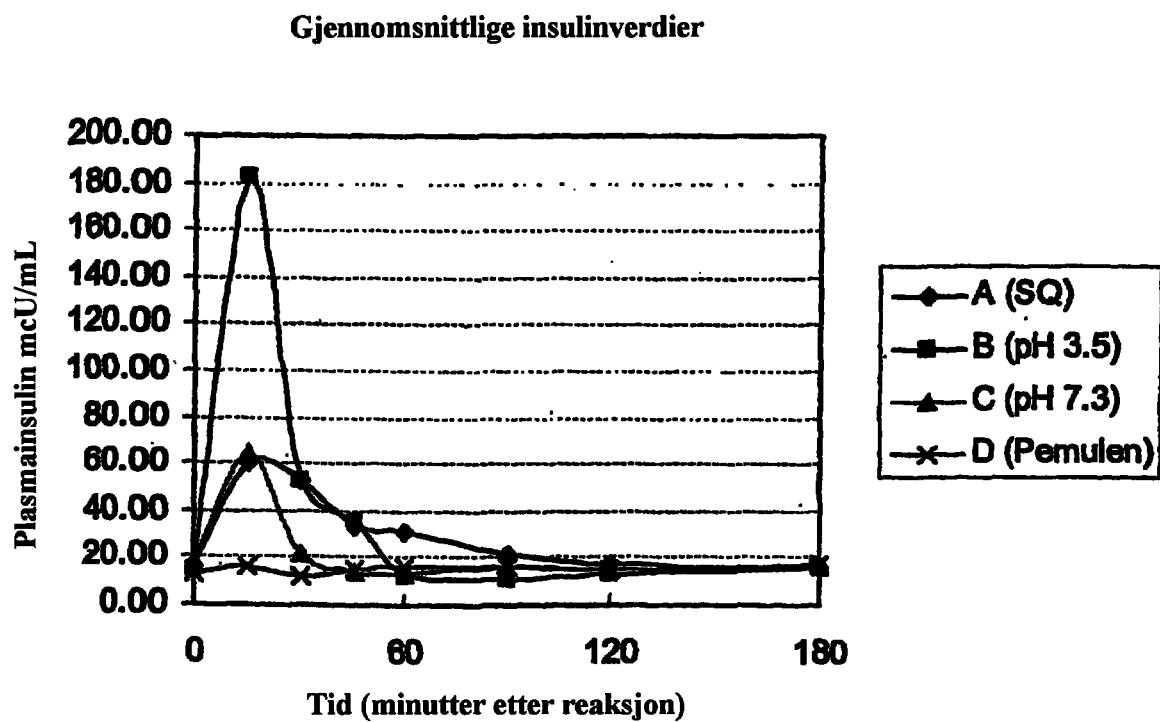
10 12.

Produkt, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en nesepprayapplikator, intranasal spraydoseringsinnretning, eller finfordelingsapparat som inkluderer et farmasøytisk preparat ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene.

15



**Figur 1. Gjennomsnittlige glukoseverdier
(n=8)**



Figur 2. Gjennomsnittlige insulinverdier