

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

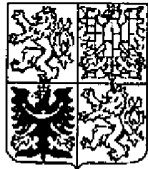
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2342-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **17. 01. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **24.01.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/9501286**

(33) Země priority: **GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 10. 97**
(Věstník č. 10/97)

(86) PCT číslo: **PCT/GB96/00083**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/22764**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 9/127

(71) Přihlášovatel:

NOVARTIS AG, Basle, CH;

(72) Původce:

Taylor Peter William, Billingshurst, GB;

Maas Janet Catherine, Horsham, GB;

(74) Zástupce:

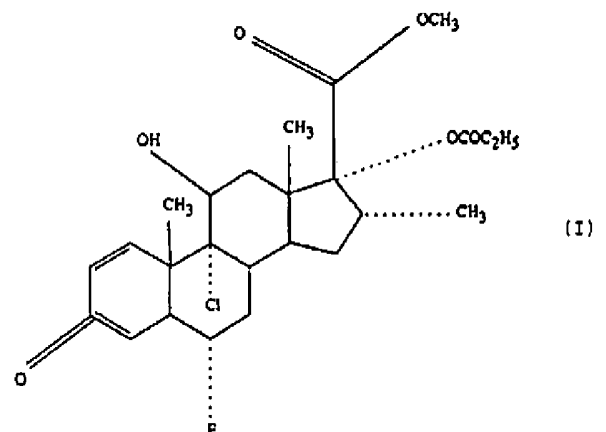
Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7,
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Farmaceutický prostředek obsahující
kortikosteroid a jeho použití**

(57) Anotace:

Popisuje se farmaceutický prostředek, který obsahuje jako účinnou látku sloučeninu vzorce I, obsaženou v liposomech nebo dehydratovaných liposomech. Uvedený prostředek je vhodný k použití k léčení astmatu inhalační terapií.



CZ 2342-97 A3

29674

PRIL:
VLASTNICTVÍ
PRŮMYŠLOVHO
ORÁD

Farmaceutický prostředek obsahující kortikosteroid a jeho použití

22. VII. 97

00510

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutických prostředků, které jako účinnou látku obsahují konkrétní kortikosteroid, zejména pro použití k léčení astmatu inhalační terapií, a způsobu přípravy takových farmaceutických prostředků.

Dosavadní stav techniky

Do značné míry v důsledku zvyšování znečištění životního prostředí se široce rozšířily obstrukční broncho-pulmonální choroby, jako je bronchitida a bronchiální astma. Jejich patogeneze a závažnost je u různých jedinců různá. Vnější alergické bronchiální astma, způsobené vlivy životního prostředí (například odpadními plyny, inverzním zvrstvením atmosféry) a vnitřní bronchiální astma jsou často charakterizovány těžkými záchvaty s různými dýchacími poruchami. Intenzita kašle a vykašlávání je rovněž různá. Časté jsou přechodné a smíšené formy astmatu a při lékařském ošetření je třeba je brát v úvahu.

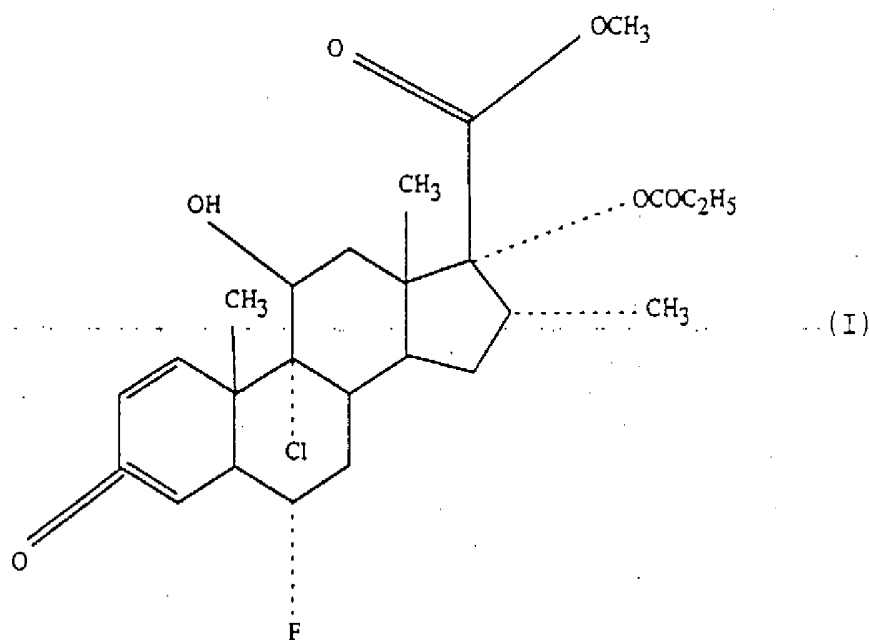
Pro léčení takových poruch různé intenzity a různého původu jsou k dispozici tři skupiny účinných látek s přijatelnými riziky, kromě kombinovaných formulací. Těmito třemi skupinami jsou β_2 -adrenergní činidla jako je adrenalin, bamethan, clenbuterol, fenoterol, sulbutamol a terbutalin, deriváty xanthinu jako je theofylin a diprofylin a anticholinergika obsahující atropinové deriváty ipatropium-bromid a oxitropium-bromid. Pokud je terapie pomocí formulací na bázi těchto tří skupin účinných látek neúspěšná, doporučuje se použití určitých kortikosteroidů, jako je beclomethason nebo budesonid, které se podávají orálně nebo inhalačně. Všechny formulace kortikosteroidů používané v současné inhalační

terapii však kromě žádaných antialergických, antiexsudativních - protizánětlivých vlastností mají mírné ale nežádoucí systémové vedlejší účinky v důsledku absorpce inhalovaného kortikosteroidu. Inhalační terapii za použití kortikosteroidů je obvykle nutné provádět po mnoho let, což podstatně zvyšuje problém systémových vedlejších účinků.

Podstata vynálezu

Nyní bylo s překvapením zjištěno, že methyl-9 α -chlor-6 α -fluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyand-rosa-1,4-dien-17 β -karboxylát, dříve navržený jako účinná látka pro dermatologické masti, krémy, gely a pěny, vykazuje zejména dobré antiastmatické vlastnosti, pokud se podá uzavřený v liposomech. Bylo rovněž zjištěno, že je u této sloučeniny pozorována překvapivě nízká systémová absorpce.

V souladu s tím vynález podle jednoho provedení popisuje farmaceutický prostředek, který obsahuje jako účinnou látku sloučeninu vzorce I



obsaženou v liposomech nebo dehydratovaných liposomech.

Sloučeninu vzorce I, methyl-9 α -chlor-6 α -fluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-3-oxo-17 α -propionyloxyandrosta-1,4-dien-17 β -karboxylát, lze připravit jak je popsáno v britském patentu č. 1 578 243. Pro podání za použití inhalačního zařízení mohou být liposomy ve vodné suspenzi nebo v dehydratované formě, jako suchý prášek.

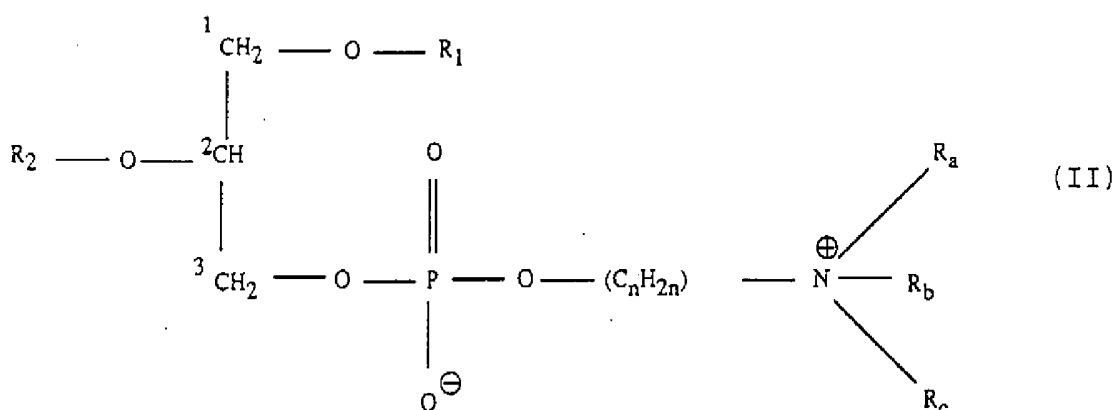
Bylo zjištěno, že liposomy obsahující sloučeninu vzorce I, jsou snadno přijímány alveolárními makrofágy a účinně inhibují zvyšování počtu eosinofilů v Brown - Norwayově modelu alergenem indukované eosinofilie na kryších.

Mezi vhodné liposomy obecně patří ty liposomy, ve kterých lipidová složka zahrnuje alespoň jeden syntetický fosfolipid. Mezi příklady syntetických fosfolipidů patří syntetické fosfatidylcholinu jako je dimyristoyl-fosfatidylcholin, dipalmitoyl-fosfatidylcholin, distearoyl-fosfatidylcholin, dioleoyl-fosfatidylcholin, dilinoleoyl-fosfatidylcholin, dilauryloyl-fosfatidylcholin, 1-palmitoyl-2-oleoyl-fosfatidylcholin, 1-myristoyl-2-palmitoyl-fosfatidylcholin a 1-palmitoyl-2-myristoyl-fosfatidylcholin, syntetické fosfatidylglyceroly jako je dilauryloyl-fosfatidylglycerol, dimyristoyl-fosfatidylglycerol, dipalmitoyl-fosfatidylglycerol a dioleoyl-fosfatidylglycerol, syntetické fosfatidové kyseliny jako je dimyristoyl-fosfatidová kyselina a dipalmitoyl-fosfatidová kyselina, syntetické fosfatidylethanolaminy jako je dimyristoyl-fosfatidylethanolamin a dipalmitoyl-fosfatidylethanolamin a syntetické fosfatidylseriny jako je dimyristoyl-fosfatidylserin, dipalmitoyl-fosfatidylserin a dioleoyl-fosfatidylserin.

Výhodně lipidová složka liposomů zahrnuje syntetický fosfatidylcholin jako jsou fosfatidylcholinu uvedené výše, popřípadě spolu se syntetickým fosfatidylserinem nebo syntetickým fosfatidylglycerolem jako jsou fosfatidylseriny a fosfatidylglyceroly uvedené výše, přičemž hmotnostní poměr fosfatidylcholinu k fosfatidylserinu nebo fosfatidylglycerolu

je výhodně od 60 : 40 do 95 : 5, zejména od 70 : 30 do 90 : 10.

Podle jednoho výhodného provedení lipidová složka liposomů zahrnuje syntetický, v podstatě čistý fosfolipid obecného vzorce II



ve kterém

R_1 představuje alkanoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

R_2 znamená alkenoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

symboly R_a , R_b a R_c představují vždy atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od dvou do čtyř.

Ve fosfolipidu obecného vzorce II je alkanoylovou skupinou s 10 až 20 atomy uhlíku, ve které počet atomů uhlíku je sudé číslo, ve významu symbolu R_1 , výhodně n-dodekanoylová, n-tetradekanoylová, n-hexadekanoylová, n-oktadekanoylová nebo n-eikosanoylová skupina.

Alkenoylovou skupinou s 10 až 20 atomy uhlíku, ve které počet atomů uhlíku je sudé číslo, ve významu symbolu R_2 , je výhodně 9-cis-dodecenoylová, 9-cis-tetradecenoylová, 9-cis-hexadecenoylová, 6-cis-oktadecenoylová, 6-trans-oktadecenoylová, 9-cis-oktadecenoylová, 9-trans-oktadecenoylová, 11-cis-

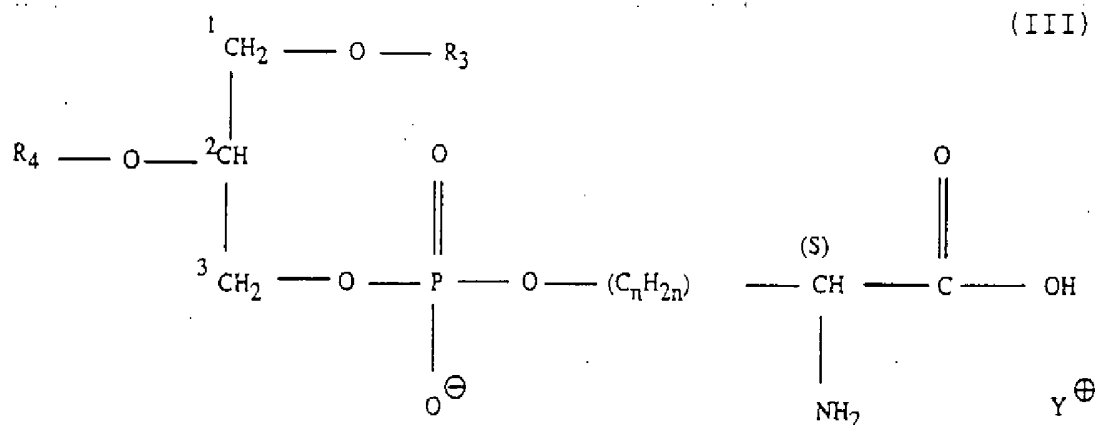
-oktadecenoylová nebo 9-cis-eikosenoylová skupina. Symboly R_a , R_b a R_c ve fosfolipidu obecného vzorce II znamenají výhodně vždy alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, zejména methylovou skupinu.

Proměnná \underline{n} v obecném vzorci II znamená celé číslo od dvou do čtyř, výhodně má \underline{n} hodnotu dva. Skupinou vzorce $-(C_n-H_{2n})-$ je rozvětvená nebo nerozvětvená alkylenová skupina, například 1,1-ethylenová skupina, 1,1-, 1,2- nebo 1,3-propylenová skupina nebo 1,2-, 1,3- nebo 1,4-butylenová skupina. Výhodná je 1,2-ethylenová skupina ($\underline{n} = 2$).

Zejména výhodný je fosfolipid obecného vzorce II, ve kterém R_1 představuje n-dodekanoylovou, n-tetradekanoylovou, n-hexadekanoylovou nebo n-oktadekanoylovou skupinu, R_2 znamená 9-cis-dodecenoylovou, 9-cis-tetradecenoylovou, 9-cis-hexadecenoylovou, 9-cis-oktadecenoylovou nebo 9-cis-eikosenoylovou skupinu, symboly R_a , R_b a R_c představují vždy methylovou skupinu, a \underline{n} má hodnotu dva.

Obzvláště výhodným fosfolipidem obecného vzorce II je syntetický 1-n-hexadekanoyl-2-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-cholin.

V určitých zejména výhodných liposomech lipidová složka zahrnuje fosfolipid obecného vzorce II v kombinaci se syntetickým, v podstatě čistým fosfolipidem obecného vzorce III



ve kterém

symboly R_3 a R_4 nezávisle na sobě představují vždy alkenoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

n je celé číslo od jedné do tří, a

Y^{\oplus} znamená kation farmaceuticky přijatelné báze.

Alkenoylovou skupinou s 10 až 20 atomy uhlíku, ve které počet atomů uhlíku je sudé číslo, ve významu symbolu R_3 nebo R_4 v obecném vzorci III, je výhodně 9-cis-dodecenoylová, 9-cis-tetradecenoylová, 9-cis-hexadecenoylová, 6-cis-oktadecenoylová, 6-trans-oktadecenoylová, 9-cis-oktadecenoylová, 9-trans-oktadecenoylová, 11-cis-oktadecenoylová nebo 9-cis-eikosenoylová skupina.

Kationtem farmaceuticky přijatelné báze, označeným symbolem Y^{\oplus} , je například ion alkalického kovu, například lithný, sodný nebo draselný ion, amonný ion, mono-, di- nebo trialkylamoniový ion s 1 až 4 atomy uhlíku v každé alkylové části, například trimethyl-, ethyl-, diethyl- nebo triethylamoniový ion, tetramethylamoniový ion, 2-hydroxyethyl-tri-alkylamoniový ion s 1 až 4 atomy uhlíku v každé alkylové části, například cholinový kation, nebo 2-hydroxyethylamoniový ion, nebo kation bážické aminokyseliny, například lysinu nebo argininu. Kationtem Y^{\oplus} je výhodně sodný ion.

V zejména výhodném fosfolipidu obecného vzorce III jsou symboly R_3 a R_4 stejné a představují vždy například 9-cis-dodecenoylovou, 9-cis-tetradecenoylovou, 9-cis-hexadecenoylovou, 9-cis-oktadecenoylovou nebo 9-cis-eikosenoylovou skupinu, n má hodnotu 1 a Y^{\oplus} znamená sodný ion.

Zejména výhodným fosfolipidem obecného vzorce III je syntetický natrium-1,2-di-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-S-serin.

Podle dalšího výhodného provedení lipidová složka liposomů zahrnuje di(alkanoyl)fosfatidylcholin s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části, spolu s di(alkanoyl)fosfatidylglycerolem s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části, přičemž počet atomů uhlíku v alkanoylových skupinách je sudý, a výhodné hmotnostní poměry jsou popsány výše. Dvě alkanoylové skupiny přítomné v každém fosfolipidu mohou být stejné nebo rozdílné a jsou jimi výhodně n-dodekanoylová (lauroylová), n-tetradekanoylová (myristoylová), n-hexadekanoylová (palmitoylová), n-oktadekanoylová (stearoylová) nebo n-eikosanoylová skupina. Podle zejména výhodného provedení je di(alkanoyl)fosfatidylcholinem s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části distearoyl-fosfatidylcholin a di(alkanoyl)fosfatidylglycerolem s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části dipalmitoyl-fosfatidylglycerol.

Lipidová složka liposomů může obsahovat kromě fosfolipidu (nebo fosfolipidů) cholesterol, přičemž množství cholesterolu činí například od 20 do 60, výhodně 30 až 50 mol% celkového obsahu lipidu. Podle dalšího výhodného provedení lipidová složka liposomů zahrnuje syntetický fosfatidylcholin, jak jsou popsány výše, syntetický fosfatidylserin nebo fosfatidylglycerol, jako jsou látky popsané výše, a cholesterol, přičemž výhodný hmotnostní poměr fosfatidylcholinu k fosfatidylserinu nebo fosfatidylglycerol je popsán výše a výhodný hmotnostní poměr cholesterolu k celkovému obsahu fosfolipidu je od 1 : 1 do 1 : 5. Podle zejména výhodného provedení lipidová složka zahrnuje dimyristoyl-fosfatidylcholin, cholesterol a dioleoyl-fosfatidylserin.

Obecně je žádoucí, aby byl hmotnostní poměr účinné sloučeniny k lipidu co nejvyšší, při zachování stability liposomu. Maximální hmotnostní poměr se může lišit v závislosti na povaze a složení lipidové složky, obecně však bude pravděpodobně činit přibližně 1 : 20. Bylo však

zjištěno, že dobrých výsledků lze dosáhnout s liposomy, ve kterých hmotnostní poměru je od 1 : 100 do 1 : 50.

Liposomy obsahující účinnou sloučeninu podle vynálezu lze připravit za použití známých způsobů pro přípravu liposomů obsahujících léčiva. Podle jednoho způsobu se například roztok sloučeniny vzorce I a jednoho nebo více lipidů v organickém rozpouštědle, jako je alkohol, ether nebo halogenovaný uhlovodík nebo jejich směs, postupně, výhodně po kapkách, přidává k míchanému vodnému médiu, jako je fosfátem pufrovaný roztok chloridu sodného, čímž se získá vodná suspenze liposomů. Podle dalšího způsobu se jeden nebo více lipidů a sloučenina vzorce I rozpustí v organickém rozpouštědle, jako je alkohol, ether nebo halogenovaný uhlovodík nebo jejich směs, z výsledného roztoku se odstraní rozpouštědlo, například vysušením vymražením nebo na rotační odparce, a zbytek se disperguje ve vodném médiu, jako je fosfátem pufrovaný roztok chloridu sodného nebo vodný roztok cukru, například laktosy, za vzniku vodné suspenze liposomů.

Vodnou suspenzi liposomů lze zpracovat pomocí známých způsobů za účelem odstranění rozpouštědla a snížení velikosti liposomů. Například vodnou suspenzi liposomů připravenou prvním výše popsaným způsobem za použití organického rozpouštědla mísitelného s vodou lze podrobit dialýze, popřípadě po dalším zředění vodným médiem, a dialyzovanou suspenzi zahustit ultrafiltrací. Vodnou suspenzi liposomů připravenou prvním způsobem, avšak za použití organického rozpouštědla nemísitelného s vodou, lze odpařit pro odstranění rozpouštědla a poté zahustit ultrafiltrací. Vodnou suspenzi liposomů připravenou druhým způsobem popsaným výše, kterým se obvykle vytvoří multilamelární váčky (MLV), lze pro snížení velikosti liposomů protlačit přes jednu nebo více membrán, například polykarbonátových membrán, s určenou velikostí pórů. Liposomy pro použití podle vynálezu vykazují výhodně velikost částic menší než 1 μm , výhodněji 20 - 200 nm

a zejména 50 - 100 nm.

Liposomy obsahující sloučeninu vzorce I lze dehydratovat, výhodně lyofilizací (sušení vymražením), za vzniku suchého prášku pro podání inhalátorem na suché prášky při léčení astmatu. Dehydratované liposomy se rehydratují kapalinou v dýchacích cestách pacienta. Lyofilizace liposomů se obecně provádí za přítomnosti činidla chránícího před účinky mrazu (kryoprotektantu), které může být začleněno do vodného média použitého k vytváření liposomů. Činidlem chránícím před účinky mrazu je výhodně cukr, například monosacharid jako je glukosa, polymerní cukr jako je dextrans, nebo výhodně disacharid jako je sacharosa, laktosa, maltosa nebo trehalosa. Zejména výhodnými činidly chránícími před účinky mrazu jsou laktosa a trehalosa. V souladu s běžným postupem sušení vymražením se primární lyofilizace výhodně provádí při teplotě pod teplotou fázového přechodu materiálu, který má být lyofilizován.

Dehydratací liposomů za přítomnosti činidla chránícího před účinky mrazu se vytvoří suchý prášek obsahující směs dehydratovaných liposomů a činidla chránícího před účinky mrazu. Pokud je, jak je výhodné, činidlo chránící před účinky mrazu přítomné ve vodném médiu, ve kterém se tvoří liposomy, je činidlo chránící před účinky mrazu přítomné jak na vnitřních tak na vnějších površích liposomových částic. Hmotnostní poměr činidla chránícího před účinky mrazu k lipidu v liposomech činí obecně od 1 : 1 do 4 : 1, ačkoli lze, pokud je to žádoucí, použít nižší nebo vyšší poměry.

Pokud je to nutné, rozemele se produkt získaný dehydratací liposomů obsahujících sloučeninu vzorce I, zejména pokud se dehydratace provádí lyofilizací za přítomnosti činidla chránícího před účinky mrazu, za vzniku částic o velikosti vhodné pro použití v inhalační terapii, pro aplikaci například za použití inhalačního zařízení na suché prášky. Vhodná velikost obecně činí méně než 10 μm , výhodně 1 až

7 μm . Liposomy obsahující sloučeninu vzorce I lze rovněž použít v inhalační terapii ve formě suspenze ve vodném médiu, pokud je to nutné po výše popsaném zpracování pro snížení velikosti částic liposomů na vhodné rozmezí. Pro použití v této formě lze liposomy připravit ve vodném médiu, které má být použito jako nosič v inhalační terapii, nebo je lze připravit v jiném médiu a oddělit je z něho a popřípadě dehydratovat jak je popsáno výše před začleněním do vodného média, které má být použito jako nosič v inhalační terapii. Vodným médiem může být vodné médium, které se běžně používá jako nosič v inhalační terapii. Obvykle se jedná o vodu, ve které je rozpuštěna jedna nebo více farmaceuticky přijatelných pomocných látek, jako je chlorid sodný, pufrční činidla, antioxidanty a povrchově aktivní látky. Vhodným vodným médiem je fosfátem pufrovaný roztok chloridu sodného, který může obsahovat antioxidant jako je α -tokoferol. Při použití v inhalační terapii lze vodnou suspenzi liposomů podle vynálezu podávat pomocí známého rozprašovače, například pneumatického rozprašovače.

Suchý prášek podle vynálezu obsahující sloučeninu vzorce I uzavřenou v dehydratovaných liposomech může být umístěn do kapslí, například želatinových nebo plastových, nebo do polštářků pro použití v inhalačním zařízení na suché prášky. Kapsle nebo polštářky výhodně obsahují dávkovací jednotky suchého prášku, které mohou obsahovat například 10 až 1000 μg , výhodně 50 až 400 μg sloučeniny vzorce I spolu s dostatečným množstvím nosiče pro získání 4 až 40 mg, výhodně 20 až 30 mg suchého prášku. Alternativně může být suchý prášek umístěn do zásobníku vícedávkového inhalačního zařízení na suché prášky uzpůsobeného tak, že při každém uvedení do chodu aplikuje například 2 mg suchého prášku.

Vynález se podle dalšího provedení týká rovněž způsobu léčení astmatu, který zahrnuje inhalační podání účinného množství sloučeniny vzorce I, jak je definována výše,

obsažené v liposomech nebo dehydratovaných liposomech, jak jsou definovány výše.

Denní dávka sloučeniny vzorce I se může lišit podle věku a hmotnosti léčeného pacienta a závažnosti onemocnění. Obecně mohou být denní dávky v rozmezí 50 až 2000 μg , obvykleji 100 až 1000 μg .

Vynález ilustrují následující příklady, ve kterých jsou uváděnými částmi části hmotnostní, pokud není uvedeno jinak.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

700 mg 1-n-hexadekanoyl-2-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-cholinu a 300 mg natrium-1,2-di-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-S-serinu se při teplotě 40° C rozpustí ve 20 ml terc.butanolu. Získaný roztok se smíchá s roztokem, který se vytvoří rozpuštěním 10 mg methyl-9 α -chlor-6 α -fluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-3-oxo-17 α -propionyl-oxyandrosta-1,4-dien-17 β -karboxylátu (sloučeniny 1) v 5 ml terc.butanolu při teplotě 40° C, a teplota se vrátí na 40° C. Výsledný roztok se při teplotě místnosti po kapkách přidá k 200 ml dobře míchaného fosfátem pufrovaného roztoku chloridu sodného (PBS) o pH 7,4. Získaná vodná suspenze liposomů se dialyzuje proti PBS za použití membrány AMICON YM 100 v atmosféře dusíku, a zahustí se na objem 20 ml. Zahuštěná vodná suspenze liposomů se postupně zfiltruje přes filtry s velikostí pórů 0,8 μm a 0,2 μm a rozdělí se po 2 ml do sterilních ampulek. Získaná suspenze je vhodná pro podání rozprašovačem při léčení astmatu inhalační terapií.

Příklad 2

Opakuje se postup přípravy z příkladu 1 s tím rozdílem,

že se místo fosfátem pufovaného roztoku chloridu sodného použitého v příkladu 1 použije jako pro vytváření liposomů tak pro dialýzu vodný roztok obsahující 94,4 g monohydrátu laktosy na litr a 0,24 g chloridu sodného na litr, čímž se získá zahuštěná vodná suspenze liposomů.

Příklad 3

Zahuštěná vodná suspenze liposomů připravená v příkladu 2 se vysuší vymražením v lyofilizéru Lyovac GT4. Získaná suchá hmota se mikronizuje za použití pulverizátoru Trost rozmělnujícího proudem vzduchu, čímž se získá suchý prášek se střední velikostí částic 6 - 7 μm , který je vhodný pro podání inhalačním zařízením na suché prášky při léčení astmatu inhalační terapií.

Příklad 4

700 mg distearoyl-fosfatidylcholinu, 300 mg dipalmitoyl-fosfatidylcholinu a 20 mg sloučeniny vzorce I se rozpustí ve 20 ml směsi chloroformu a methanolu v objemovém poměru 2 : 1. Rozpouštědlo se odstraní na rotační odparce. Zbytek se disperguje ve 40 ml vodného roztoku laktosy obsahujícího 94,4 g monohydrátu laktosy na litr a 0,24 g chloridu sodného na litr, čímž se získá vodná suspenze liposomů. Tato suspenze se při teplotě 70° C pod tlakem dusíku protlačí dvakrát přes dvě polykarbonátové membrány s velikostí otvorů 200 nm a desetkrát přes dvě polykarbonátové membrány s velikostí otvorů 100 nm pro snížení velikosti částic liposomů. Výsledná suspenze se lyofilizuje a mikronizuje jako v příkladu 3, čímž se získá suchý prášek, který je vhodný pro podání inhalačním zařízením na suché prášky při léčení astmatu inhalační terapií.

Příklad 5

678 mg dimyristoyl-fosfatidylcholinu, 193 mg cholesterolu, 81 mg dioleoyl-fosfatidylserinu a 20 mg sloučeniny vzorce I se rozpustí ve 20 ml terc.butanolu. Terc.butanol se odstraní z výsledného roztoku vysušením vymražením. Zbytek se disperguje ve vodném roztoku laktosy jak je popsáno v příkladu 4 a suspenze liposomů se protlačí membránami jak je popsáno v příkladu 4, ale při teplotě 35° C místo 70°C, pro snížení velikosti liposomů na 100 nm. Výsledná suspenze se lyofilizuje a mikronizuje jako v příkladu 3, čímž se získá suchý prášek, který je vhodný pro podání inhalačním zařízením na suché prášky při léčení astmatu inhalační terapií.

Příklad 6

Účinek liposomů obsahujících v nich uzavřenou sloučeninu vzorce I na zvyšování počtu eosinofilů se testuje na Brown - Norwayově modelu alergenem indukované eosinofilie na krysách, jak popsali Elwood a kol., J. Allergy Clin. Immunol 1991, 88, 951 - 60. Zkoumají se čtyři skupiny inbredních krys samčího pohlaví, o hmotnosti 180 až 220 g:

Skupina 1: Zvířata se senzitivizují intraperitoneální injekcí 1 ml 0,9% (hmotnost/objem) suspenze 1 mg ovalbuminu a 100 mg Al(OH)₃ a o 21 dnů později se vystaví na dobu 15 minut působení aerosolu samotného roztoku chloridu sodného.

Skupina 2: Zvířata se senzitivizují ovalbuminem jako zvířata ze skupiny 1 a o 21 dnů později se vystaví na dobu 15 minut působení 1% aerosolu ovalbuminu.

Skupina 3: Zvířata se senzitivizují ovalbuminem jako zvířata ze skupiny 1 a o 19 dnů později se jim v ketaminové

anestezii transtracheálně injikuje 0,5 ml suspenze liposomů z příkladu 1 obsahující 3 μg sloučeniny vzorce I, a o 24 hodin později se jim podá další taková transtracheální injekce. 24 hodin po druhé injekci se zvířata vystaví na dobu 15 minut působení 1% aerosolu ovalbuminu.

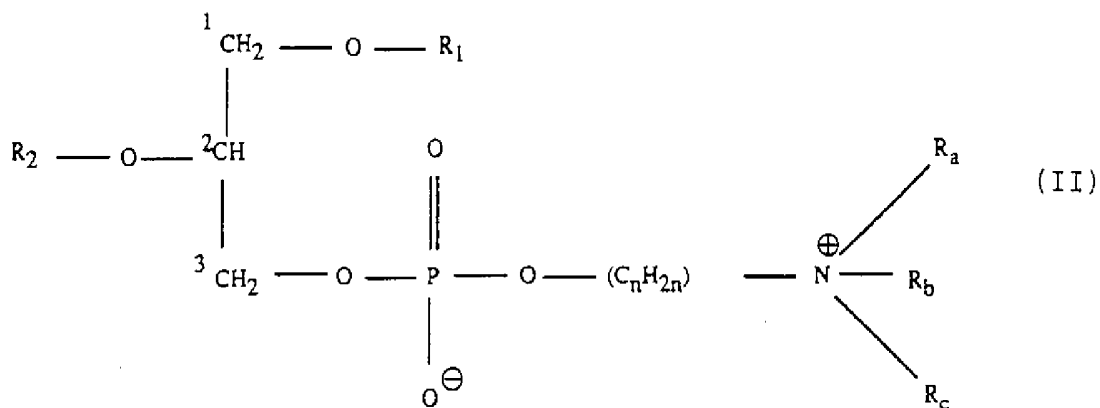
Příklad 4: Zvířata se ošetří stejně jako zvířata ze skupiny 3, ale místo liposomů obsahujících sloučeninu vzorce I se použijí placebo-liposomy připravené stejným postupem ale s vynecháním sloučeniny vzorce I.

V každé skupině krys se 24 hodin po vystavení působení aerosolu provede bronchoalveolární výplach pro stanovení počtu eosinofilů. Výsledky jsou následující:

skupina	počet eosinofilů na krysu
1 (působení roztoku chloridu sodného)	$0,25 \times 10^5$
2 (působení ovalbuminu)	$19,0 \times 10^5$
3 (liposomy obsahující sloučeninu vzorce I)	$10,3 \times 10^5$
4 (placebo-liposomy)	$16,9 \times 10^5$

s e t í m , že uvedený hmotnostní poměr je od 70 : 30 do 90 : 10.

6. Prostředek podle libovolného z nároků 3 až 5, v y z n a č u j í c í s e t í m , že lipidová složka zahrnuje syntetický fosfolipid obecného vzorce II



ve kterém

R_1 představuje alkanoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

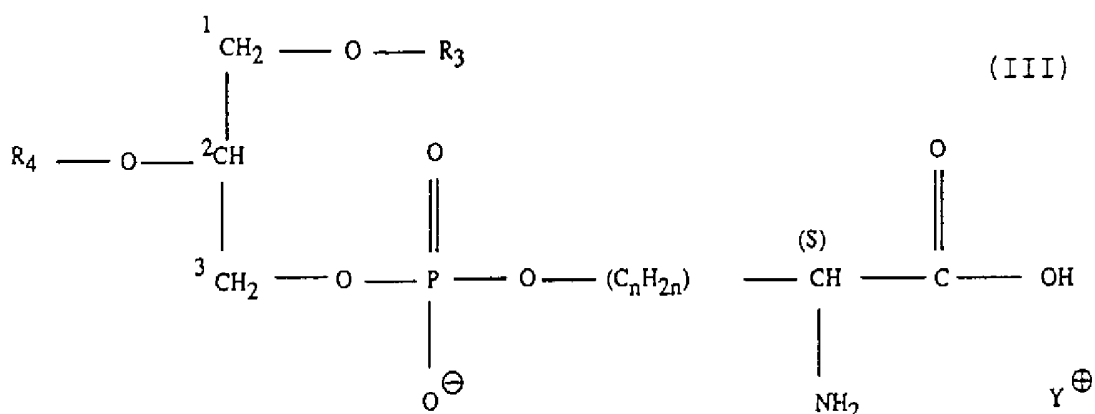
R_2 znamená alkenoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

symboly R_a , R_b a R_c představují vždy atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, a

n je celé číslo od dvou do čtyř.

7. Prostředek podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m , že fosfolipidem obecného vzorce II je 1-n-hexadekanoyl-2-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-cho-
lin.

8. Prostředek podle libovolného z nároků 3 až 7, v y z n a č u j í c í s e t í m , že lipidová složka zahrnuje syntetický fosfolipid obecného vzorce II podle nároku 6 spolu se syntetickým fosfolipidem obecného vzorce III



ve kterém

symboly R_1 a R_2 nezávisle na sobě představují vždy alkenoylovou skupinu s 10 až 20 atomy uhlíku, přičemž počet atomů uhlíku je sudé číslo,

n je celé číslo od jedné do tří, a

Y^\oplus znamená kation farmaceuticky přijatelné báze.

9. Prostředek podle nároku 8, v y z n a č u j í c í s e t í m , že fosfolipidem obecného vzorce III je natrium-1,2-di-(9-cis-oktadecenoyl)-3-sn-fosfatidyl-S-serin.

10. Prostředek podle libovolného z nároků 3 až 5, v y z n a č u j í c í s e t í m , že lipidová složka zahrnuje di(alkanoyl)fosfatidylcholin s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části, spolu s di(alkanoyl)fosfatidylglycerolem s 10 až 20 atomy uhlíku v každé alkanoylové části.

11. Prostředek podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m , že fosfatidylcholinem je distearoyl-fosfatidylcholin a fosfatidylglycerolem je dipalmitoyl-fosfatidylglycerol.

12. Prostředek podle libovolného z nároků 2 až 11, v y z n a č u j í c í s e t í m , že lipidová složka rovněž obsahuje cholesterol.

13. Prostředek podle nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m , že množství cholesterolu činí od 20 do 60 mol% hmot. celkového obsahu lipidu.

14. Prostředek podle nároku 12 nebo 13, v y z n a č u j í c í s e t í m , že lipidová složka zahrnuje dimyristoyl-fosfatidylcholin, cholesterol a dioleoyl-fosfatidylserin.

15. Prostředek podle libovolného z nároků 1 až 14, v y z n a č u j í c í s e t í m , že hmotnostní poměr sloučeniny vzorce I k lipidu je od 1 : 100 do 1 : 50.

16. Prostředek podle libovolného z nároků 1 až 15, v y z n a č u j í c í s e t í m , že liposomy vykazují velikost částic méně než 1 μm .

17. Prostředek podle libovolného z nároků 1 až 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že liposomy jsou ve vodné suspenzi.

18. Prostředek podle libovolného z nároků 1 až 16, v y z n a č u j í c í s e t í m , že je ve formě suchého prášku, který obsahuje směs (a) dehydratovaných liposomů obsahujících sloučeninu vzorce I, a (b) činidla chránícího před účinky mrazu.

19. Prostředek podle nároku 18, v y z n a č u j í c í s e t í m , že hmotnostní poměr činidla chránícího před účinky mrazu k lipidu v liposomech je od 1 : 1 do 4 : 1.

20. Použití prostředku podle libovolného z nároků 1 až 19 k přípravě léčiva pro léčení astmatu.