

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 3636

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **08.04.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **09.04.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/128477**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.03.2002**
(Věstník č. 3/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/US00/09438**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/61147**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 31/485

A 61 K 9/16

A 61 P 25/30

(71) Přihlašovatel:
SOUTHERN RESEARCH INSTITUTE, Birmingham,
AL, US;

(72) Původce:
Tice Thomas R., Indian Springs, AL, US;
Staas Jay K., Alabaster, AL, US;
Ferrel Teresa M., Vestavia Hills, AL, US;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Mikročásticový prostředek obsahující volnou
bázi naltrexonu, forma vhodná pro injekční
podávání, injekční stříkačka obsahující
prostředek, způsob redukce spotřeby heroinu a
alkoholu**

(57) Anotace:

Byly připraveny přípravky pomalu uvolňující naltrexon, které jsou vhodné pro injekční aplikaci, obsahující naltrexon imobilizovaný na matrici poly(D,L-laktidu) s malým množstvím zbytkového ethylacetátu. Po intramuskulární injekci přípravku se naltrexon kontrolovaným způsobem v určitém časovém úseku uvolňuje. Kompozice nalezne uplatnění v léčbě lidí závislých na heroinu a alkoholiků, kdy se sníží spotřeba zneužívané látky.

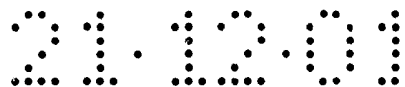
Mikročástečový prostředek obsahující volnou bázi naltrexonu, forma vhodná pro injekční podávání, injekční stříkačka obsahující prostředek, způsob redukce spotřeby heroinu a alkoholu

Oblast techniky

Nadměrné užívání drog zůstává hrozbou společnosti. Ačkoli je stále více zřejmé, že k získání této závislosti podstatnou měrou přispívá genetický předpoklad, pomoc závislým lidem v ukončení jejich závislosti, či dosažení alespoň takové úrovně jejich závislosti, aby se stali platnými členy společnosti, se stává stále více přijímaným přístupem, spíše než léčení závislosti jako morálního problému. Ve veřejných i soukromých sektorech se rozvíjejí různé programy. V soukromém sektoru jsou to například takové organizace jako Anonymní alkoholici a Anonymní narkomani, které hrají důležitou roli v psychosociální podpoře. Dále existuje mnoho soukromých klinik, kde je poskytována jak psychosociální podpora, tak podpora pomocí léčiv, kdy se ale využívá omezený repertoár dostupných léků. Ve veřejné oblasti existuje řada extenzivních programů, které se snaží přitáhnout pozornost mladých lidí a jejich rodičů k problému nebezpečí užívání drog a k odrazení mladých lidí od započetí užívání drog. Také existují programy založené na methadonu, které jsou podporovány zejména veřejností.

Počet subjektů závislých na užívání drog je ve Spojených státech zcela ohromující. Odhaduje se, že na alkoholu je závislých asi 15 milionů lidí, na užívání kokainu ve všech jeho formách 1,3 milionu lidí a okolo 0,8 milionu lidí je závislých na amfetaminech a 0,5 až 0,8 milionu lidí je závislých na užívání heroinu, a to mimo užívání dalších drog, jako jsou psychedelické drogy. Snaha o redukci počtu uživatelů uvedených látek a alkoholu se jeví být nekonečná a bezvýsledná. Subjekty, které se zapojily do programů vykazují vysoký počet recidiv, takže jen malá část lidí, které se zapojí do těchto programů zůstane čistá (bez příjmu drog) i po delší době po skončení programu.

Významným faktorem v udržení stavu bez recidiv je zdrženlivost od drog. Opakovaná činnost, jako je denní braní tablet, není jednoduchou záležitostí, i v případě, že subjekt nemá s příjmem tablet žádné problémy. Pro uživatele drogy, který má fyziologickou a emoční závislost na zneužívané látce, je udržování terapeutické rutiny podstatně těžší. Terapeutické techniky, které vyžadují na subjektu vytrvalost v činnosti, snižují pravděpodobnost úspěchu léčení. Je proto velmi významné, získat schopnost redukovat úroveň zapojení těchto subjektů



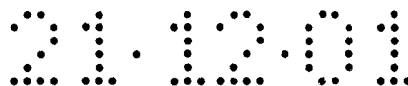
při léčení, zvláště potom léčení, které zahrnuje časté plánování, monitorování plnění a dodržování zvláštního režimu.

Za účelem snižování dopadu a vyhovění léčbě, byly vyvinuty nové metodologie, umožňující uvolňování účinné látky. V těchto metodách jsou zahrnuty injekce, náplasti, deposity a tak podobně. Jeli nástroj pro uvolňování dostupný uživateli, bude vždy existovat pokušení k jeho odstranění během chuti na drogu. Tato příležitost může být ukazatelem síly vůle, na druhé straně uvádí subjekt do rizika vzdát se. Pomalým uvolňováním léčiva, které má být zavedeno do těla, se odstraní touha po droze a léčivo je uvolňováno v souladu s určeným schématem v časovém úseku. Mohou být implantovány tyčinky, které se zavádějí a vyndávají chirurgicky, nebo se používají mikročástice, které se zavádějí injekčně a jsou navrženy tak, že k uvolňování léčiva dochází kontrolovaným způsobem v určitém časovém úseku.

Pro různé léky byly vyvinuty různé mikročástice, ze kterých se léky pomalu uvolňují, některé z nich byly i komercializovány. Na vývoj odpovídajících částic pomalu uvolňujících léčiva, které by mohly být aplikovány injekčně, byla kladena různá omezení: uvolnění léčiva se musí dít v určitém časovém úseku; během doby léčení nesmí hladina léčiva klesnout pod účinnou mez; nesmí být dosaženo hazardní hladiny; léčivo musí být uvolňováno pomalu, bez katastrofických výkyvů; hmota polymeru použitá pro tvorbu mikročástic musí být biokompatibilní a biodegradabilní; všechny zbývající chemikálie musí být pod maximální dovolenou hranicí; mikročástice musí být malé a musí umožnit aplikaci pomocí injekční stříkačky s jehlou, které budou vhodné pro pacienty; výsledky musí být reprodukovatelné, což vyžaduje přesnou kontrolu systému a nesmí být přespříliš citlivý na malé změny podmínek; injekční agens musí být schopno sterilizace; vznikající metabolity nesmí překročit odpovídající úroveň; stejně tak i další charakteristiky, které mohou být obecné, či specifické pro danou látku. Mikročástice jsou citlivé na mnoho vlastností léčiv a matrice, stejně tak na výběr postupu a podmínek, za kterých byly mikročástice připraveny a následně užity.

Dosavadní stav techniky

Krantzler a další (Alcoholism:Clin and Exp Res 1998, 22:1074-1079) popsali ve své publikaci léčbu alkoholiků pomalu se uvolňujícím naltrexonem z částic, které byly podávány injekčně. Další studie zabývající se naltrexonem a jeho užitím ve formě, která umožňuje jeho pomalé uvolňování, byly provedeny v Reuningově laboratoři (Reuning a další, NIDA Re: Monograph Series, Jan. 1976, (4) str.43-5; Reuning a další, J. Pharmacokinet Biopharm, Aug 1983, 11 (4), str.369-87; Reuning a další, Drug Metab Dispos Nov-Dec 1989, 17(6) str.583-9;



MacGregor a další, J. Pharm Pharmacol, Jan. 1983, 35(1) str.38-42; Reuning a další, NIDA Res Monograph Series 1980, 28, str.172-84. Další údaje lze nalézt v: Schwope a další, NIDA Res Monograph Series, 1975, (4), str.3-8; Yolles a další, J Pharm Sci Feb 1975, 64(2) str. 348-9; Thies, NIDA Res Monograph Series, 1975 (4), str. 19-20; Schwope a další, NIDA Res Monograph Series, Jan 1976, 4, str.13-18; Chiang a další, Clin Pharmacol Ther Nov. 1984 36(5),str.704-8; Pitt a další, NIDA Res Monograph Series 1981, 28, str.232-53; Chiang a další, Drug Alcohol Depend (Switzerland), Sep 1985, 16 (1) str.1-8; Yoburn a další, J. Pharmacol Exp Ther, Apr 1986, 237 (1) str.126-130; Cha a Pitt, J. Control Release, 1989, 8(3), str.259-265; Yamaguchi a Anderson, J. Control Release, 1992, 19(1-3), str.299-314.

Užití naltrexonu při léčbě alkoholismu je popsáno dále v O'Malley a další, Psychiatric Annals, Nov 1995, 11, str.681 - 688, stejně tak v řadě dalších publikací. Patenty vztahující se k tomuto tématu jsou následující: patenty US 4 568 559; 4 623 588; 4 897 267; a 5 486 362. Patent US 5 407 609 popisuje způsob aplikovatelný na způsob popsany ve vynálezu.

Užití polyaktidu k přípravě léčiva obsahujícího mikročástice je popsáno v Benita a další, J Pharm Sci, Dec 1984, 73(12) str. 271-4; Speniehauer a další, tamtéž, Aug 1986, 75(8), str. 750 -5; a Nihant a další, Oct 1994, 11(10), str.479-84.

Podstata vynálezu

Vynález popisuje pomalu se uvolňující sloučeniny naltrexonu, které lze injekčně aplikovat a které jsou schopné během určitého časového úseku uvolňovat terapeuticky účinné množství naltrexonu a obsahují dále polymer poly(D,L-laktid). Mikročástice mají průměr nižší než 100 µm a mohou být snadno injekčně intramuskulárně aplikovány. V závislosti na molekulové hmotnosti polymeru, homogenitě molekulových hmotností polymeru, velikosti mikročástice v polymeru a hmotnostních procentech naltrexonu, se získají rozdílné profily uvolňování účinné látky. Mikročástice se připravují extrakcí emulze oleje ve vodě pomocí rozpouštědel, kdy dispergovaná olejová fáze obsahuje naltrexon a polymer rozpuštěný v organickém rozpouštědle.

Pomalu se uvolňující přípravky naltrexonu, které lze injekčně aplikovat, byly připraveny pro účely léčby lidí závislých na alkoholu a heroinu a i pro další indikace, ve kterých je léčba naltrexonem účinná. Byly připraveny malé sterilizované částice, mikročástice, které procházejí injekční jehlou a mohou tak být aplikovány intramuskulárně, kdy zůstávají určitou dobu po injekci v místě vpichu a udržují plynulé pomalé uvolňování terapeuticky účinného množství naltrexonu po dobu alespoň 28 dnů. Bylo shledáno, že průběh

uvolňování je závislý na množství naltrexonu v mikročásticích, užití volné báze ve srovnání se solí a v podstatné míře na vlastní viskozitě a homogenitě (profilu molekulových hmotností) poly(L,D-laktidu). Profil uvolňování je méně citlivý na podmínky, za kterých byl proveden proces mikrokapsulace, na rozložení velikosti mikročástic, za předpokladu, že se přípravek skládá především z částic rozsahu velikostí od 20 do 100 μm a množství rozpouštědla v polymeru je zachované a pokud toto množství je pod 3 hmotnostními procenty.

Rozložení léčiva v mikročásticích pozorované pomocí SEM se jeví být stejnoměrné v celém objemu hmoty. Mikročástice obsahují méně než 3 hmotnostní % ethylacetátu, organického rozpouštědla užitého k přípravě mikročástice. Obsah naltrexonu v mikročásticích se mění od 5 do 50 hmotnostních % a může být rozdílný v závislosti na dané viskozitě poly(D,L-laktidu) tvořícího vlastní polymerní nosič. Vlastní viskozita polymeru se pohybuje v rozsahu mezi 0,3 až 1,2 dl/g (kapilární způsob měření viskozity, chloroform, koncentrace polymeru 0,5 g/dl; 30 °C). Jestliže má nosič vlastní viskozitu v rozsahu od 0,3 do 0,4 dl/g, množství naltrexonu se pohybuje v rozmezí od 5 do 45 hmotnostních %, obvykle mezi 10 a 40 hmotnostními %, ve výhodném uspořádání mezi 10 a 30 hmotnostními %.

Jestliže se vlastní viskozita polymeru pohybuje v rozsahu 1,0 až 1,2 dl/g, výhodně potom 1,0 až 1,1 dl/g, pohybuje se množství naltrexonu od 35 do 45 hmotnostních %. Pro největší část připraveného přípravku, se vůbec nepoužívají polymery mající viskozitu v rozsahu 0,45 až 0,95 dl/g. Směsi polymerů a/nebo mikročástice lze použít také pro dodání požadovaného množství naltrexonu v průběhu určité časové periody. Tak, jestliže smícháme dva různé polymery (před mikrokapsulací) mající rozdílné vlastní viskozity, hmotnostní procenta dvou různých polymerů se mohou pohybovat v rozmezí 1 : 99 až 99 : 1; ve výhodném provedení od 10 : 90 až 90 : 10; kde polymer s nižší vlastní viskozitou (to znamená, že polymer o nižší molekulové hmotnosti je zastoupen v menším množství, než polymer s vyšší vlastní viskozitou (polymer s vyšší molekulovou hmotností) . Podobně, mikročástice naltrexonu připravené z nízkomolekulárního polymeru mohou být smíchány s mikročásticemi připravenými z polymeru o vyšší molekulové hmotnosti, kdy obsah léku (hmotnostní % naltrexonu ve formě mikročástice) se může měnit, v závislosti na tom, zda se smíchají dva či více druhů mikročástic dohromady. Ve směsi se dvěma druhy mikročástic se bude hmotnostní poměr měnit v rozsahu od 5 : 95 až 95 : 5; kde, budou-li mikročástice připraveny z polymeru o nižší molekulové hmotnosti, bude jeho obsah v rozmezí od 10 do 65 hmotnostních %.

Více než 90 hmotnostních % mikročastic má průměr v rozsahu od 20 do 100 μm a méně než 5 hmotnostních % bude mít průměr větší než 100 μm .

Pro redukci tvorby (shluků) aglomerátů, jsou mikročastice potaženy antiaglomeračním činidlem, jako je manitol, který může zaujmout méně než 10 hmotnostních %, ve výhodném uspořádání méně než 5 hmotnostních %, v ještě výhodnějším užití ještě méně než 2 hmotnostní % v mikročasticích.

Je žádoucí, aby mikročastice uvolňovaly naltrexon v průběhu alespoň čtyř týdnů, kdy koncentrace určená křivkou monitorující hladinu naltrexonu v plasmě lidí je menší než 40 % v každém týdnu vytčeného časového úseku, výhodně potom alespoň 10 %, a ještě výhodněji alespoň 12 %. Obecně v průběhu nejméně dvou týdnů, ve výhodném uspořádání tří týdnů se uvolní část, která by neměla být větší než 25 %, v ještě výhodnějším provedení ne větší než 20 % týdně.

Je žádoucí, aby se během prvních čtyř týdnů uvolnilo 75 % množství navázaného naltrexonu, určené jako oblast pod křivkou, výhodněji potom 80 % a v nejvýhodnějším provedení 95 % naltrexonu. Oblast pod křivkou se určí pomocí standardního farmakokinetického programového vybavení, programem nazvaným WinNonlin Professional (verze 2,1. Pharsight, Inc. Mountain view, CA)

Pro vlastní podávání jsou mikročastice rozpuštěny ve vhodném roztoku tak, aby poskytovaly okolo 150 až 350 mg naltrexonu, v obvyklém provedení 250 až 350 mg naltrexonu, ve výhodném provedení 300 ± 15 mg naltrexonu pro dávku. Roztokem může být sterilní voda, pufovaný fyziologický roztok, či další běžně používaný roztok užívaný pro podávání mikročastic. Mohou být přítomna i aditiva, která redukují adhesi mikročastic, snižují bolestivost injekce, redukují otok, svědění, vznik boulí a další případné nepříjemné projevy. Ve výhodném provedení se užívá manitol v koncentraci 2 až 10 hmotnostních %, v ještě výhodnějším provedení v koncentraci 4 až 7 hmotnostních % vlastního rozpouštědla. Mohou být přítomna ještě další fyziologicky akceptovatelná aditiva, která zahrnují například neionogenní detergenty, například Tween, polysorbát, a tak dále. Jsou-li tato aditiva přítomna, potom jsou v koncentracích okolo 0,05 až 0,2 hmotnostních %. Dále může přípravek obsahovat činidla zvyšující viskozitu, jako je například karboxymethylcelulosa, v koncentraci okolo 0,1 až 1 hmotnostního % a je-li třeba, ještě další běžně používaná činidla. Celkové množství rozpouštědla se pohybuje obvykle v rozsahu okolo 1,5 až 5 ml, obvykle mezi 2 a 4 ml, ve výhodném provedení mezi 2 a 3 ml, kde nižší množství představuje množství vhodné pro více injekcí, například pro dvě. Mikročastice se rozpustí v rozpouštěcím roztoku těsně před použitím. Sterilizované mikročastice se skladují ve sterilních zkumavkách s přepážkou,

v těchto zkumavkách se částice promíchají s roztokem a suspenze se ze zkumavky získá pomocí vysátí sterilní injekční stříkačkou. Obvykle by jehla neměla mít větší vnitřní průměr než 18 jednotek. Při vícečetném podávání pomocí injekcí, injekce mohou být dávány do téhož místa, do sousedního či vzdáleného místa aplikace.

Mikročástice se připraví mikronkapsulací, postup je popsán v patentu US 5 407 609. Postup je založen na emulzi, což zahrnuje přípravu emulze obsahující kontinuální vodnou fázi (voda a povrchově aktivní či zahušťovací činidla) a hydrofobní dispergovanou fázi (rozpouštědlo polymeru, polymer a léčivo). Krátce po vytvoření emulze se odstraní extrakcí do vodní fáze rozpouštědlo polymeru. Po vyextrahování dostatečného množství rozpouštědla dojde k ztuhnutí mikročástic, mikročástice se shromáždí na sítu a promyjí se tak, aby se odstranily zbývající povrchově aktivní látky z povrchu mikročástic. Mikročástice se potom usuší na vzduchu při pokojové teplotě, či se vysuší lyofilizací nebo obvyklými sušicími procesy.

Pro přípravu zde zmíněných vlastních mikročástic dispergovaná fáze (organický roztok) obsahuje 1 až 10 hmotnostních % naltrexonu a okolo 1 až 20 % polymeru rozpuštěného v ethylacetátu. Kontinuální fáze je vodný roztok obsahující od 1 do 10 hmotnostních % polyvinylalkoholu a 1 až 7 hmotnostních % ethylacetátu. Extrakční fází je voda. Obecně, obsah naltrexonu se pohybuje od 20 do 50 hmotnostních % nad stanovené konečné množství naltrexonu v mikročásticích. Teploty jsou pokojové, pohybují se v rozsahu od 15 do 30 °C.

Po zakoncentrování a usušení mikročástic, tyto mohou být uchovávány za pokojové teploty, zvláště pak v rozsahu teplot od 0 do 20 °C v bezkyslíkatém a bezvodém prostředí, nebo jsou rozděleny po alikvotech do vhodných nádob a sterilizovány. Mohou být použity různé metody sterilizace, vhodnou metodou se jeví i sterilizace gama zářením. Mikročástice lze připravit pomocí poměrně jednoduchého zařízení. Přístroj lze sestavit pomocí různých zásobních nádob obsahujících různé kapaliny, hadiček a pump, ventilů a homogenizátoru. Navíc do systému lze zapojit různé měřicí přístroje, jako jsou průtokoměry, teplotní čidla, monitory velikosti částic, a tak dále. Organické rozpouštědlo se pumpuje první hadičkou, která vede do homogenizátoru. Podobně je vodný roztok (používaný jako kontinuální fáze) pumpován druhou hadicí vedoucí také do homogenizátoru. Pomocí kontroly průtokové rychlosti obou proudů jdoucích do homogenizátoru lze kontrolovat poměr obou proudů, stejně tak dobu zdržení v homogenizátoru. Odtok z homogenizátoru (olejová emulze ve vodě) se vypouští třetí hadicí, kterou protéká voda. Voda extrahuje polymer rozpuštěný v ethylacetátu z emulzních kapiček a tvoří mikročástice. Opět platí, že poměr průtokových

rychlostí kontroluje množství emulze a vody zavedené do třetí hadice. Délka třetí hadice a rychlost průtoku spojovaných proudů v první a druhé hadici kontroluje délku časového úseku extrakčního kroku s vodou. Mikročástice jsou potom roztrženy podle velikosti, děje se tak pomocí průchodu dvěma či více sítí, které nepustí mikročástice nad stanovený rámec velikosti.

Primární způsob aplikace uvedené látky je intramuskulární injekce, lze však použít i subkutánní injekce. Aplikuje se normálně lidem závislým na návykových látkách, jako je alkohol a heroin, ale látka může být užitá i pro další indikace, například, jako je obezita. Vhodné množství uvedeného přípravku přímo injekčně aplikováno do vhodného místa, například do hyžďového svalu. Potom se u subjektu sleduje koncentrace naltrexonu v plazmě, aby byla jistota, že se uvolňuje množství vhodné pro terapeutické užití, to znamená alespoň 1 ng/ml, ve výhodném provedení 2 ng/ml. Jestliže koncentrace v plazmě klesne pod terapeuticky účinnou hladinu, lze aplikovat následnou injekci, a tak lze tento proces opakovat po celou dobu léčení.

U lidí závislých na heroinu, se musí nejprve pacient detoxikovat pomocí celé řady způsobů, používají se buprenorfin, clonidin, naltrexon a tak podobně, kontrola se provede naloxonem. Pozitivní odpověď na naloxon indikuje, že pacient nebyl kompletně detoxikován. Bylo také shledáno, že asi 10 % populace, která byla testována pomocí orálního podávání naltrexonu, vykazuje nepříznivou reakci, která může jedince vést k odmítnutí léčby, nebo vyloučení užití naltrexonu. Kromě toho byly uveřejněny zprávy o hepatotoxicitě, která byla výsledkem užívání vysokých dávek naltrexonu, s poukázáním na fakt, že přicházejí v úvahu vysoké dávky metabolitu, 6 β -naltrexolu, který vykazuje hepatotoxické působení, takže pacient, který má částečně zasažená játra, to znamená například pacienti infikovaní žloutenkou typu C, mohou být vyloučeni z léčby. Na druhé straně, naltrexon byl shledán bezpečný při podávání léčiva v dávkách vyšších, než jsou podávány pacientovi. U alkoholiků bylo shledáno, že pacient neodpovídá nepříznivě na naltrexon, proto přípravek může být pacientovi injekčně aplikován. Dále bylo shledáno, že naltrexon slouží ke zvýšení kontroly u alkoholiků pro množství konzumovaného alkoholu a počtu flámů.

Užitím mikročástic s dlouhodobou uvolňovací kapacitou, která může dosáhnout dobu větší než 28 dní, ve výhodném provedení okolo 32 dnů, což pokrývá mnohočetné podávání, takže podáním injekcí v pravidelných časových intervalech, lze vyvolat zvyšující se vliv. Tímto způsobem lze aplikovat po první dávce nižší dávky, protože trvá uvolňování přípravku z mikročástic dříve injekčně podaných, ke kterým se přidává množství uvolňované z pozdějších injekcí mikročástic, nebo může být využíváno zvýšení hladin naltrexonu bez

zvýšení množství mikročástic, které jsou aplikovány. Předpokládá se, že se lék bude uvolňovat z mikročástic do krve v množství 1 ng/ml, výhodněji pak v nadbytku 1,5 ng/ml krve, v ještě výhodnějším provedení 2 ng/ml krve po dobu více než 28 dní po injekční aplikaci, častěji potom alespoň 36 dní, ještě výhodněji alespoň 36 dní, nejvýhodněji alespoň 42 dní. Tímto způsobem se ochrana mnohonásobně zvýší, protože pacient je souvisle chráněn protektivní hladinou naltrexonu a lze připravit hladinu naltrexonu, která bude inhibovat odpověď na 50 mg dávku heroinu nebo ekvivalentní dávku různých drog, například fentanylu.

Následující příklad je zde uvedený pouze pro ilustraci a žádným způsobem neomezuje platnost vynálezu.

Příklad provedení vynálezu

Mikrokapsulační proces zahrnuje mikrokapsulaci provedenou extrakcí rozpouštědlem. Smíchají se nevodná báze, poly(D,L-laktid) a ethylacetát, zavedou se do připojeného homogenizátoru s vodou a povrchově aktivní látkou. Vytvoří se emulze, přidá se další voda a zahájí se extrakční proces. Produkt, mikročástice naltrexonu, se usuší lyofilizací ve skleničkách. Produkt se podrobí gama sterilizaci při expozici 2,5 Mrad a sleduje se prokázání biologické čistoty, sleduje se bakteriostáze a fungiozáze.

Vhodné množství sušených, naltrexonových mikročástic se odváží do prázdných 5 ml zkumavek, uzavře se gumovou zátkou, utěsní hliníkovou krytkou a zataví se do plastových sáčků. V tomto stavu lze částice převážet a sterilizovat. K resuspendaci mikročástic se použijí zkumavky obsahující 2 ml ředícího roztoku obsahují 0,5% karboxymetyl celulosu, 0,1% polysorbát 80 a 5% manitol. Suspenze se naplní do 3 ml injekčních stříkaček s jehlou o průměru 18. Intramuskulární injekce se aplikují ihned, jakmile se mikročástice připraví. Dávka je tvořena jednou nebo dvěma injekcemi o objemu 2 až 4 ml, ne více však, jak 4 ml vcelku.

Kontrolovalo se rozdělení velikostí a to tak, že 90 objemových % každé dávky bylo větší než 40 μm a menších než 90 μm . V pokuse in vitro uvolňování byly definovány charakteristiky uvolňování a to jako % uvolnění během prvních 72 hodin při 37 °C.

Popis mikrokapsulace naltrexonu je podán v následujícím textu.

Krok 1: Roztok polymeru o koncentraci 2,5 hmotnostních % se připravil smícháním ethylacetátu s poly(D,L-laktidem) o nízké molekulové hmotnosti v bioreaktoru o obsahu 8 l vybaveném

PTFE-potaženým míchacím zařízením. K úplnému rozpuštění polymeru je potřeba nejméně 4 hodin. Byla měřena váha roztoku polymeru v nádobě bioreaktoru a bylo-li to třeba, přidal se do roztoku další ethylacetát, čímž se roztok vrátil na požadovanou hmotnost.

Krok 2: Roztok o koncentraci 2 hmotnostní % polyvinylalkoholu (PVA) se připravil smícháním PVA ve sterilní vodě, ve třech až čtyřech dávkách za stálého míchání při teplotě 90 °C. Každá dávka se potom nechala vychladnout při pokojové teplotě a dodala se voda, aby se nahradily ztráty zapříčiněné odpařováním. Po provedení testu integrity pomocí filtrace se naplnilo 200 l zařízení Millipak 200-liter a roztok se přefiltroval a rozdělil do nádob bioreaktorů po 36 l. Nádoby bioreaktoru s obsahem byly potom zváženy a do roztoku PVA se přidal roztok ethylacetátu v koncentraci 2,5 hmotnostních %. Směs byla pomocí PTEE potažených vrtulí míchacího zařízení míchána po dobu nejméně 30 minut.

Krok 3 : Na každých 15 gm připravoveného produktu léku bylo potřeba přidat nejméně 8 litrů vody a směs byla přenesena do 50 galonových nerezových tanků, zakryta a zde uchovávána.

Krok 4: Dispergovaná fáze roztoku naltrexonu se připravila přidáním naltrexonu k roztoku polymeru za stálého míchání. Roztok se míchal po dobu nejméně jedné hodiny, dokud se naltrexon nerozpustil.

Krok 5: Při sestavení zařízení pro provedení kontinuální mikrokapsulace se všechny složky, to znamená disperzní fáze, kontinuální fáze a extrakční fáze a pumpy kalibrovaly na určitou průtokovou rychlost, například 25 gm/min, 125 gm/min a 2000 gm/min, tímto způsobem se připravila sloučenina 1 (F-1). Tryska pro zavedení disperzní fáze se promyla roztokem disperzní fáze a nastavily se parametry průtokové rychlosti na pumpě dodávající disperzní fázi. Potom se spustila pumpa dodávající extrakční fázi a tato přiváděná extrakční fáze se zbavila bublin. Poté se zapojila pumpa přivádějící kontinuální fázi a do extrakční hadice se začalo přivádět PVA. Potom došlo k zapojení homogenizátoru a rychlost otáček byla nastavena v rozsahu 650 ± 20 rpm. Následně se otevřel jehlový ventil přivádějící disperzní fázi a spustila se pumpa přivádějící disperzní fázi. Tím byl zajištěn přítok disperzní fáze do komory homogenizátoru, kde byl již roztok PVA. Toto je vlastní začátek celého procesu. Po homogenizaci emulze vytéká z homogenizační linky a vtéká do extrakční linky, která je naplněna protékající vodou, která extrahuje ethylacetát z mikročastic.

Suspenze mikročastic ve vodě se potom shromažďuje do nerezových nádob o obsahu 50 galonů, vybavených motorovým mícháním a míchací vrtulí. Mikročastice se míchají při otáčkách 500 ± 50 rpm dokud se tank nenaplní na 25 až 50 %. Za užití odstředivé pumpy se suspenze mikročastic poté nechá projít filtračním zařízením RBF-12 Vorti-Sieve, které se

skládá ze série oscilujících sít majících hustotu 125 μm a 20 μm . Jestliže se síta ucpou, jsou odstraněna a nahradí se novou sadou čistých sít. Síta s velikostí pórů 20 μm se potom promývají vodou v 80 galonovém nerezovém promývacím tanku a látka je zde za stálého míchání ponechána do té doby, než se shromáždí zbytek dávky. Po přidání poslední dávky disperzní fáze do homogenizátoru se pumpa dodávající disperzní fázi vypne a uzavře se jehlový ventil umožňující přítok disperzní fáze. Toto je konečná fáze přípravy jedné dávky. Konečné množství disperzní fáze se potom homogenizuje, extrahuje a filtruje přes síta. Síta se potom promyjí vodou, která je přes ně pumpována po dobu 10 minut, tímto způsobem se promyjí mikročástice. Mikročástice na sítu o velikosti pórů 20 μm jsou potom vymývány do 80 galonového nerezového promývacího tanku, kde jsou nepřetržitě míchány za užití otáček 500 ± 50 rpm po dobu minimálně 3 hodin. Za užití odstředivé pumpy se suspenze mikročástic poté nechá projít filtračním zařízením RBF-12 Vorti-Sieve, které se skládá ze série oscilujících sít majících hustotu 125 μm a 20 μm . Mikročástice zachycené na sítu o velikosti pórů 20 μm se potom přenesou do sběrného tanku, kde jsou promývány vodou. Mikročástice se naředí vodou, čímž se vytvoří 15% suspenze pevných částic, koncentrace se určí na základě odhadovaného výtěžku. Suspenze se za stálého míchání rozdělí do jednolitrových lyofilizačních láhví, a to tak, že každá láhev obsahuje odhadem asi 20 gm mikročástic. Po lyofilizaci se mikročástice suší na sítu o velikosti pórů 125 μm . Mikročástice se potom zváží a rozdělí do hnědě zbarvených skleněných lahviček.

Lahvičky jsou potom zazátkovány, utěsněny a zabaleny do plastových sáčků se silikagelem užitým jako sušidlo. Sáčky jsou skladovány při teplotě v rozmezí 2 až 8 °C. Jestliže mikročástice splňují dříve definovaná kritéria pro přijetí, to znamená množství léčiva, rozdělení podle velikosti částic, teoretického výtěžku a zbytkového ethylacetátu, jsou potom baleny v jednotlivých dávkách do 5 ml ampulí z flintového skla. Ampule jsou potom uzavřeny gumovou zátkou potaženou PTFE, utěsněny hliníkovým krytem, označeny a zalepeny do jednotlivých plastových sáčků.

Návod popisující detailní postup přípravy a složení uvedených souprav je dán v následujícím textu:

1. Pomocí jehly č. 18 nasajte 2,0 ml ředícího roztoku do 3 ml injekční stříkačky a potom obsah vypustíte do lahvičky s mikročásticemi. Použitou injekční stříkačku a jehlu vyhodíte.

2. Lahvičku řádně protřepávejte po dobu 30 s, aby se resuspendovaly mikročástice.
3. Na novou injekční 3 ml stříkačku dejte novou injekční jehlu o velikosti 18.
4. Nasajte suspenzi mikročástic do injekční stříkačky, lahvičku otočte dnem vzhůru.
5. Vypustěte mikročástice zpět do lahvičky.
6. Tento krok opakujte 4 až 5-krát.
7. Vyhod'te použitou stříkačku a jehlu.
8. Opět vložte na novou injekční stříkačku jehlu č. 18.
9. Nasajte suspenzi mikročástic do injekční stříkačky, lahvičku otočte dnem vzhůru.
Vytáhněte jehlu ven z lahvičky.
10. Ze suspense odstraňte bublinky vzduchu a podejte dávku tak rychle, aby nedošlo k opětné sedimentaci mikročástic.

Následující tabulka udává specifické parametry pro přípravu mikročástic a vlastnosti a užití mikročástic *in vitro* a *in vivo*. V *in vivo* pokusech byly psům podány injekčně intramuskulárně pomocí jehly č. 18 dva mililitry roztoku obsahující mikročástice o hmotnosti uvedené v tabulce. V uvedených časových úsecích byly vzorky plazmy vyšetřeny na přítomnost naltrexonu. V pokusech *in vitro* byly mikročástice rozpuštěny v 0,01 M fosfátovém pufru pH 7,4 při 37 °C a v uvedených časových úsecích byla určována zbytková hladina naltrexonu v částicích.

Dávka č.	Pes ID.	Nanesný naltrexon, cílová hmotnostní %	Nanesný naltrexon, skutečná hmotnostní %	Účinnost kapsulace %	Tepota °C	Viskozita vlastního polymeru dl/g	Průměrná velikost částic µm
92	2062-HM	50	38,3	77		1,07	57,76
	2067-HM						
	2073-IM						
142	2063-JM	50	42.5	85		1,07	44,36
	2066-JM						
	2070-KM						
118	2065-FM	60	49.0	82	22	1,07	39.78

	2072-FM								
	2075-GM								
					Kontinuální fáze byla při pokojové teplotě 22 °C; voda nasycená 3 % ethylacetátem				
Dávka č.	Dávka naltrexonu mg	Dávka mikročastic	Roz-pouště-dlo ml	Naltrexon v plazmě ng/ml (h)					
				1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	48 h
92	165	430,8	1,8	6,8	2,79	1,82	0,73	0,82	0,81
	147	383,8	1,8	6,33	4,14	2,34	0,64		0,86
	202,5	528,7	1,7	9,66	5,28	2,41	0,89	1,13	0,61
142	135	317,6	1,8	6,22	4,14	2,27	0,67	1,24	1,23
	165	388,2	1,8	5,19	3,5	2,33	0,68	0,72	1,04
	191,3	566,5	1,7	17,28	8,79	3,21	1,35	1,02	0,84
118	165	336,7	1,8	1 5,56	7,39		1,25	1,81	1,8
	133,5	272,4	1,9	7,6	4,04	1,77	0,79	0,71	0,9
	225	459,2	1,8	13,2	6,62	3,2	1,02	1,41	1,28

Dávka č.	Naltrexon v plazmě							
	3 den	7 den	11 den	14 den	18 den	21 den	29 den	35 den
92	1,17	24,95	5,14	3,99	3,27	3,63	1,38	0,7
	0,62	18,04	11,13	7,22	4,87	3,42	1,8	1,SS
	1,29	40,1	17,71	7,74	4,43	4,2	1,26	NA
142	1,55	30,35	7,7	2,79	1,74	1,31	0,99	0,86
	1,03	23,3	5,82	2,38	2,1	2,15	1,46	0,87
	1,14	32,27	11,98	2,73	7,18	5,74	1,8	NA
118	2,44	45,3	7,17	4,65	1,22	0,48	BQ L	
	1,02	28,4	1,98	0,71	BQL			
	2,21	35,01	5,63	2,07	1,44	0,54	BQ L	
BQL = pod hranicí kvantitativního určení								

Analýza hladin naltrexonu v krvi psů: Analýza naltrexonu v plazmě psů byla vyvinuta za užití HPLC a elektrochemické detekce. Těmito postupy byla analyzována plazma psa bez naltrexonu (slepý pokus), stejně tak plazma psů s vysokou hladinou naltrexonu. Po extrakci vzorku nebyly během měření ve vzorcích plazmy zjištěny žádné endogenní sloučeniny, které by interferovaly s určením naltrexonu a interních standardů. Postup byl charakterizován na linearitu, přesnost, preciznost a citlivost. Rozsah linearit měření se pohyboval od 0,5 do 10 ng/ml naltrexonu v psí plazmě. Přesnost byla velmi vysoká, procentuální rozdíl mezi teoretickými a zpětně vypočítanými koncentracemi standardu byl menší než 15 %. Limit pro nejnižší koncentraci naltrexonu, kterou bylo možno zjistit, byl 0,5 ng/ml. Pomocí tohoto postupu byly vyhodnoceny všechny farmakokinetické studie vzorků u psů.

Psi byly podrobeni působení podání fentanylu, aby se zjistilo, zda podání fentanylu interferuje s naltrexonem. U hladin cirkulujícího naltrexonu, které byly nižší než $<0,2$ ng/ml, bylo pozorováno ovlivnění dýchání psů při koncentracích 0,0; 0,02 a 0,04 mg/kg fentanylu. Byl-li použit fentanyl intravenosně, fentanyl způsobil u psů, kteří byli při vědomí, stejné EEG deprese jako 0,5 až 8 mg/kg morfinu. Byly užito podávání série dávek opiátu a týdně byly potom vyhodnocovány zvyšující se dávky opiátu nutné k vyvolání minimální odpovědi u neléčených kontrol. Tyto zjištěné koncentrace opiátu byly potom podávány psům, kteří byli ošetřeni naltrexonem ve formě umožňující jeho pomalé uvolňování. Po podání opiátu byly měřeny čtyři parametry, které byly vybrány pro monitorování: averze na bolest; ostražitost; rychlost respirace a průměr zornice. Každá následná podaná dávka fentanylu vyžadovala vyšší dávku pro kontrolní psi, aby u nich bylo dosaženo hladiny ostražitosti 5. První dávka fentanylu byla 50 μ g a potom každý následný týden byly dávky následující: 60, 70, 110, 150, 180, 220, 240, a 280 μ g.

Výsledky získané pro sloučeninu F-1 jsou shrnuty v následující tabulce:



Výsledky studie podávání dávek opioidu psům léčeným sloučeninou F-1									
VÝSLEDKY JAK PŘED, TAK PO PODÁNÍ OPIA									
Den po podání dávky opioidu									
Velikost zornice									
Stav vzrušivosti ² Ohýbačový reflex ³									
Veterinární hodnocení									
Typ psa	Číslo psa	Číslo šarže	cm	cm	Pre	Post	Pre	Post	
F-1									
Dávka opioidu (mcg)									
Pre									
Post									
Pre									
Post									
Kontrola	2521			1,2	0,9	3	4	+	D
									Užitá suboptimální dávka opioidu
Kontrola	2530			1,2	0,9	3	3,5	+	D
									Užitá suboptimální dávka opioidu
F-1	2520	J437-041	1	1,0	1,0	3	3	+	+
									Úplný blok
F-1	2503	J437-041	1	1,2	1,0	3	3	+	+
									Úplný blok
Kontrola	2521			1,2	0,9	3	5	+	D
									Získána úplná odpověď na opioid
Kontrola	2530			1,0	0,9	3	5	+	D
									Získána úplná odpověď na opioid
F-1	2520	J437-041	8	1,0	0,9	3	3	+	+
									Úplný blok
F-1	2503	J437-041	8	1,4	1,2	3	3,5	+	+
									Úplný blok
Kontrola	2521			1,2	0,9	3	5	+	D, (-)
									Získána úplná odpověď na opioid
Kontrola	2530			1,0	0,8	3	5	+	D, (-)
									Získána úplná odpověď na opioid
F-1	2507	J554-045	12	1,0	0,9	3	4	+	+
									Částečný blok
F-1	2518	J554-045	12	1,2	1,2	3	4	+	D
									Částečný blok
Kontrola	2521			1,2	0,9	3	5	+	D
									Získána úplná odpověď na opioid

Kontrola	2530			Fentanyl, 150		0,9	0,8	3	5	+	D	Získana úplná odpověď na opioid
F-I	2520	J437-041	15	Fentanyl, 150		1,0	0,9	3	4	+	+	Částečný blok
F-I	2503	J437-041	15	Fentanyl, 150		1,4	1,0	3	3	+	+	Částečný blok
Kontrola	2521			Fentanyl, 225		1,2	1,0	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
Kontrola	2530			Fentanyl, 215		1,0	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
F-I	2507	J554-045	19	Fentanyl, 220		1,2	1,0	3	4	+	D	Minimální blok
F-I	2518	J554-045	19	Fentanyl, 220		1,2	1,0	3	4	+	D	Minimální blok
Kontrola	2521			Fentanyl, 250		1,2	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
F-I	2507	J554-045	26	Fentanyl, 240		1,0	0,8	3	4	+	D	Částečný blok
F-I	2518	J554-045	26	Fentanyl, 240		1,0	0,9	3	3	+	-	Minimální blok
Kontrola	2321			Fentanyl, 280		1,2	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
Kontrola	2550			Fentanyl, 280		1,0	0,9	3	5	+	D	Získana úplná odpověď na opioid
F-I	2507	J554-045	33	Fentanyl, 280		1,0	0,9	3	4	+	+	Částečný blok
F-I	2518	J554-045	33	Fentanyl, 280		1,0	0,9	3	3	+	+	Částečný blok
Kontrola	2521			Fentanyl, 187,5		1,2	0,9	3	5	+	D, (-)	Získana úplná odpověď na opioid
Kontrola	2530			Fentanyl, 175		1,0	0,8	3	5	+	D, (-)	Získana úplná odpověď na opioid
F-I	2520	J437-041	55	Fentanyl, 180		1,0	1,0	3	4	+	+	Částečný blok
F-I	2503	J437-041	55	Fentanyl, 180		1,2	1,2	3	2	+	+	Částečný blok

Kontrola 2521			Fentanyl, 225	1,2	1,0	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
Kontrola 2530			Fentanyl, 215	1,0	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
F-1 2520	J437-041	63	Fentanyl, 220	1,0	1,0	3	4	+	+	Částečný blok
F-1 2503	J437-041	63	Fentanyl, 220	1,4	1,0	3	4	+	-	Částečný blok
Kontrola 2521			Fentanyl, 250	1,2	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
F-1 2520	J437-041	70	Fentanyl, 240	1,0	0,9	4	4	+	+	Částečný blok
F-1 2503	J437-041	70	Fentanyl, 240	1,2	1,4	3	4	+	+	Částečný blok
Kontrola 2521			Fentanyl, 280	1,2	0,9	3	5	+	-	Získana úplná odpověď na opioid
Kontrola 2530			Fentanyl, 280	1,0	0,9	3	5	+	D	Získana úplná odpověď na opioid
F-1 2520	J437-041	77	Fentanyl, 280	1,0	0,8	3	4	+	+	Částečný blok
F-1 2503	J437-041	77	Fentanyl, 280	1,2	1,0	3	5	+	D	Minimální blok

Poznámky: ¹ Kontrola: označuje kontrolní psy, kteří nebyli ošetřeni naltrexonem.

F-1: označuje psy, kterým byl podán naltrexon v dávce 15 mg/kg naltrexonových mikročástic, označených Sloučenina F-1.

² Klíč k označení: Stupnice stavu vzrušivosti. 1 nervózní, znepokojený

2 nepokojný

3 bdělý, stojící

3,5 může stát, ale preferuje sedění

4 mátožný, ale sedící

³ Klíč k označení: Stupnice ohýbačových reflexů. + pozitivní reflex

D potlačený reflex

- bez reflexu

V další studii byli sledováni lidští dobrovolníci a byla určována jejich odpověď na různé protokoly podávání a uvolňování naltrexonu, který byl podáván v různých lékových formách.

Sledování dostupnosti a bezpečnosti schematu dávkování u lidských dobrovolníků (dávky jsou uvedeny v mg mikrokapsulovaného naltrexonu ve 2 či 4 ml injekčního media)

Skupina

Sloučenina	1	2	3	4	5	6
F-1	150 mg/ 2 ml	300 mg 2 x 2 ml	300 mg ve 4 ml	-	300 mg 2 x 2 ml	-
F-2	150 mg/ 2 ml	150 mg/2ml	-	-	-	-
F-3	150 mg/ 2 ml	150 mg/2ml	-	-	-	-
F-4	150 mg/ 2 ml	150 mg/ 2ml	-	300 mg ve 4 ml	-	-
F-1'	-	-	-	-	-	150 mg /2ml

Mikročástice byly připraveny postupem popsáním výše v souladu s FDA standardy pro lidskou potřebu. Všechny reaktanty a produkty byly analyzovány, aby se potvrdilo, že jednotlivé dávky mají správné složení, nejsou pyrogenní a mohou být užity pro lidi.

Jak naltrexon, tak i 6β – naltrexol byly analyzovány u pacientů pomocí HPLC/MS. Jako interní standard byl použit naloxon a vzorky plazmy byly extrahovány do ethyléteru. Bylo analyzováno pět standardních křivek v časovém úseku 4 dnů. Byla určena reprodukovatelnost mezi jednotlivými dny a během jednoho dne, stabilita při opakování injekčního podávání, stabilita v laboratorních podmínkách, stabilita při opakovaném mražení a tání, stabilita pro mražení a skladování po dobu až 4 dnů při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Byla stanovena oblast linearit, pro naltrexon mezi 0,50 a 50 ng/ml a pro 6β – naltrexol mezi 2 a 100 ng/ml. Hraniční hodnoty pro kvantifikaci byly stanoveny následovně: pro naltrexon a 6β – naltrexol mezi 0,50 ng/ml a 2,0 ng/ml. Dále byla zjišťována přesnost a specifita.

Bylo užito šest sloučenin, které měly následující označení a složení:

- F-1 Poly(D,L-laktid) (vlastní viskozita 0,37dl/g) polymer s 25% cílovou maximální možností vazby (skutečné procento vazby naltrexonu bylo 17,3 %)
- F-1' Poly(D,L-laktid) (vlastní viskozita 0,37dl/g) polymer s 50% cílovou maximální možností vazby (skutečné procento vazby naltrexonu bylo 38 %)
- F-2 Poly(D,L-laktid) (vlastní viskozita 1,07 dl/g) polymer s 50 % cílovou maximální možností vazby (skutečné procento vazby naltrexonu bylo 40 ± 3 %)
- F-3 Kombinace mikročástic typu F-1 a F-2 v poměru 50 : 50 (podle hmotnosti naltrexonu)
- F-4 Kombinace poly(D,L-laktidu), jaká byla užita ve sloučeninách F-1 nebo F-2 s 50% cílovou maximální vazebnou kapacitou (skutečné procento vazby naltrexonu bylo 40 ± 3 %)

Rozdělení velikostí částic bylo takové, že 90 objemových % každé dávky bylo v rozmezí $> 50\text{ }\mu\text{m}$ a $< 70\text{ }\mu\text{m}$.

Analýza hladiny naltrexonu v klinických vzorcích krve

Byla vyvinuta HPLC/MS analýza naltrexonu a 6β – naltrexolu v lidské plazmě. Jako vnitřní standard byl použit naloxon a vzorky plazmy byly extrahovány ethyleterem. Bylo analyzováno pět standardních křivek v časovém úseku 4 dnů. Byla určena

reprodukovatelnost mezi jednotlivými dny a během jednoho dne, stabilita při opakování injekčního podávání, stabilita v laboratorních podmínkách, stabilita při opakovaném mražení a tání, stabilita pro mražení a skladování po dobu až 4 dnů při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Byla stanovena oblast linearity, pro naltrexon mezi 0,50 a 50 ng/ml a pro 6 β – naltrexol mezi 2 a 100 ng/ml.

Hraniční hodnoty pro kvantifikaci byly stanoveny následovně: pro naltrexon a 6 β – naltrexol mezi 0,50 ng/ml a 2,0 ng/ml. Dále byla zjišťována přesnost a specifita. Tímto postupem byly vyhodnoceny všechny klinické vzorky.

Výzkum UAC dat pro sloučeninu F-1' byl založen na extrapolaci AUC dat získaných pro dávky odpovídající jedné 50 mg podávané v jednom dnu, kdy se předpokládá, že se denně podávala pouze jedna tableta po dobu 31 dnů. Pokus s naltrexonem byl založen na AUC hodnotách skupiny skládající se z 5 subjektů (skupina 3), které obdržely 300 mg naltrexonu vázaného na mikročasticích (sloučenina F-1') ve čtyřech jednotlivých injekcích, kdy data udávající koncentraci v plazmě se měřila po dobu 31 dnů.

Průměrné hodnoty AUC pro naltrexon a 6 β – naltrexol jsou uvedeny v následující tabulce ve srovnání s orálním podáváním F-1.

Skupina 3:

Všechny skupiny Tablety (50 mg)			F1 skupina 3 F-1(300 mg) ve 4 ml	Poměr F-1/tablety	
	AUC _{0-24 h}	AUC _{0-32 d}	AUC _{0-32 d}	% dev	
		(extrapolováno)			
	(µg.l ⁻¹ .h)	(µg.l ⁻¹ .h)	(µg.l ⁻¹ .h)		
Naltrexon					
průměr	27,8	888,0	1051,6	118,3	1,18
minimum	4,5	144,8	419,8		2,90
maximum	99,2	3173,0	2384,29		0,75
6β – naltrexol					
průměr	610,1	19521,9	3663,9	18,8	0,47
minimum	402, 4	12876,8	1202,7		0,09
maximum	985,0	31521,2	9240,9		0,29

Naltrexon

Průměrný poměr je 1,18 (rozsah 0,75 až 2,9);

6 β – naltrexol

Průměrný poměr je 0,17 (rozsah 0,09 až 0,29);

Data ukazují, že co se týká účinku aktivní části naltrexonu, je srovnatelné podávání 50 mg tablety denně po dobu jednoho měsíce a jedné dávky 300-mg mikrokapsulovaného naltrexonu podaného jako jedna intramuskulární injekce mikročástic sloučeniny F-1 jednou měsíčně.

Farmakokinetické parametry pro F-1' sloučeninu a tablety jsou shrnuty v následující tabulce:

Souhrn $\pm$ SD farmakokinetických parametrů

F-1

300 mg IM

Tablety

50 mg perorálně

	NAL	6- β METAB	NAL	6- β METAB
$T_{\max}$ h	106,8 $\pm$ 147,5	380 $\pm$ 266,6	1,3 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,7
$C_{\max}$	6,1 $\pm$ 4,6	15,6 $\pm$ 14,2	7,7 $\pm$ 6,5	69,8 $\pm$ 27,2
T_{LAST} , h	768 $\pm$ 0	768 $\pm$ 0	8,9 $\pm$ 4,8	24,0 $\pm$ 0
C_{LAST}	0,71 $\pm$ 0,32	2,82 $\pm$ 1,38	0,97 $\pm$ 0,46	12,7 $\pm$ 5,32
$AUC_{0-\text{LAST}}$	1051,6 $\pm$ 792,6	3663,9 $\pm$ 3196	27,8 $\pm$ 22,5	610,1 $\pm$ 151,4

Farmakokinetické parametry pro jednotlivé subjekty, kterým byla podávána F-1 jsou shrnuty níže:

Data pro naltrexon (sloučenina vázaná na mikročástice –F1)

150 mg	300 mg	300 mg naltrexonu ve 4 ml
naltrexonu	naltrexonu	nosiče
ve 2 ml	ve 2 x 2 ml	
nosiče	nosiče	

$C_{\max}$, ng/ml	1,8	7,9	3,5	3,5	14,1	6,1	3,3
$T_{\max}$, h	504	31,2	4	1	312	216	1
$C_{\text{den } 31}$, ng/ml	0,7	0,4	0,7	0,9	0,8	0,2	1,0

Souhrně vzato, počáteční maximum koncentrace F-1' ve vzorcích plazmy se objevilo za 1 až 4 hodiny a druhé maximum během 2 až 3 týdne. Je pravděpodobné, že počáteční vrchol odráží naltrexon vázaný na povrchu, či blízko povrchu mikročástic, který se uvolní ihned po injekci. Jednou injekčně aplikované mikročástice nasávají z okolí kapaliny, které tvoří póry jimiž se rozpouštěný naltrexon dostává do oběhu a zaručuje se tak kontinuální dodávka léku. Druhý vrchol, který se objevuje kolem 2 až 3 týdne, odpovídá biodegradaci mikročástic a existuje jistá pravděpodobnost, že počáteční hmota se desintegruje a desintegrací se vytváří větší povrch, z něhož se může uvolňovat deponovaný naltrexon a dočasně tak zvyšovat koncentraci v plazmě. Souvislé uvolňování naltrexonu v jednoměsíčních intervalech následujících po podání umožňuje řídit sílu léku z místa, kde byl deponován inkjekcí, krevním řečištěm k receptorům pro opioidy. Toto řízené působení zajistí blokaci receptoru po dobu jednoho měsíce.

Prozkoumání oblasti pod křivkou dat (AUC) pro sloučeninu F-1' prokazuje kontinuální uvolňování léčiva po dobu jednoho měsíce a toto působení je zcela srovnatelné pro podávání 300 mg naltrexonu pomocí injekce jednou měsíčně nebo 50 mg jednou denně.

Tato data mohou být charakterizována následovně: AUC po podání jedné 50 mg tablety byla extrapolována na dobu 32 dnů na základě předpokladu, že obvyklá dávka při terapii závislosti na drogách je 50 mg/den. Kromě tohoto předpokladu, byl učiněn ještě předpoklad, že není rozdíl mezi farmakokinetickými profily naltrexonu a jeho metabolitů po jedné a více dávkách tak, jak to bylo prokázáno v předchozích klinických studiích. Po injekci sloučeniny F-1', AUC_{0-32dní} je podobná závislosti, která se získá po 32 dnech podávání 50 mg denních perorálních dávek. Hladina metabolitu získaná po podávání perorálních dávek je 22 krát vyšší než hladina metabolitů po podání naltrexonu. Poměr pro hladiny metabolit/ naltrexonu je pro F-1' = 3,5. T_{last} po podání orálních dávek je v průměru 8,9 h. Sloučeniny s podporovaným postupným uvolňováním zajistí v plazmě účinný rozsah koncentrací. Další data jsou uvedena v následující tabulce.

AUC₀₋₃₁ VS AUC_{0-inf}

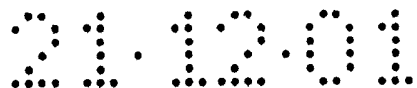
Typ mikročastic	Počet jedinců	Dávka, mg naltrexonu	AUC _{0-31 d} μg.l ⁻¹ .h	AUC _{0-3nf} μg.l ⁻¹ .h	Poměr %
F-1	11	300	1160 ± 689	1712 ± 462	67
F-2	2	150	979	1002	97
F-3	2	150	471	623	76
F-4	5	300	1632 ± 213	1982 ± 194	82
F-1'	5	150	750 ± 294	868 ± 215	86

Výše uvedené tabulky ukazují uvolňování naltrexonu v průběhu časového úseku 31 dní. Z tabulky vyplývá, že během tohoto období se uvolní hlavní část injekčně podaného naltrexonu..

Z výše uvedených výsledků dále vyplývá, že dlouhodobou dodávku naltrexonu ve fyziologicky účinné koncentraci lze uskutečnit *in vivo*. Touto cestou se obejdu problémy spojené s požadavkem na nutnost denního užívání tablet. Také odpadá nutnost denní kontroly, zda léčený subjekt tabletu užil, či ne. Z tohoto důvodu se také pacient lépe vyrovnává s problémem drogové závislosti, protože si je vědom lepší kontroly v případě alkoholismu a také se nedostaví očekávaný pocit euforie v případě užití heroinu. Také lze daleko efektivněji organizovat poradenskou službu, protože pacient nemá chuť vzít si další dávku heroinu a v případě alkoholismu vystačí s požitím menšího počtu alkoholických nápojů. Z tohoto důvodu jsou pacienti schopni funkce a jsou schopni plnit i své povinnosti v rodinách a společnosti.

Pomalé uvolňování naltrexonu podle vynálezu snižuje dopady spojené s jaterní toxicitou metabolitu 6β-naltrexolu. Tímto způsobem se totiž pacient vyhne vysokému prvotnímu zatížení metabolismu při příjmu denní dávky a je udržována konstantní nízká dávka naltrexonu, čímž se sníží hladiny 6β-naltrexolu. Největší ovlivnění metabolismu pochází z počáteční vysoké koncentrace naltrexonu po požití tablety, čemuž se patentovaným postupem zabrání. Nižší požadavky na množství aplikovaného naltrexonu vyústí v redukci množství léku požadovaného pro udržení hladiny u lidského subjektu po dobu jednoho měsíce.

Všechny publikace a patentové přihlášky týkající se této problematiky jsou zahrnuty v uvedených literárních odkazech v celém svém rozsahu; jednotlivé publikace nebo patentové přihlášky jsou specificky a jednotlivě označeny v uvedených referencích.



Výše detailně popsany vynález, jak je známo odborníkům v daném oboru, může být pozměněn mnoha způsoby a mohou v jeho rámci být provedeny modifikace, aniž by se porušila jeho hlavní myšlenka nebo rozsah uvedených patentových nároků.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Mikročasticový prostředek, obsahující volnou bázi naltrexonu v množství pohybujícím se v rozsahu od 15 do 50 hmotnostních %, poly(D,L-laktid) jako matici a méně než 3 hmotnostní % ethylacetátu, který je schopný zajistit fyziologicky účinnou hladinu naltrexonu k redukci spotřeby heroinu a alkoholu, je-li podáván intramuskulárně savcům po dobu delší než 28 dní. Alespoň 90 hmotnostních % zmíněného mikročasticového prostředku obsahuje mikročástice mající průměr v rozsahu od 20 do 100 μm .
2. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, v němž se naltrexon vyskytuje v množství v rozsahu od 15 do 25 hmotnostních % a uvedený poly(D,L-laktid) má vlastní viskozitu v rozsahu mezi 0,3 až 0,4 dl/g.
3. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, v němž se naltrexon vyskytuje v množství v rozsahu od 35 do 45 hmotnostních % a uvedený poly(D,L-laktid) má vlastní viskozitu v rozsahu mezi 1,0 až 1,1 dl/g.
4. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, kde mikročástice jsou potaženy manitolem.
5. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, kde poly(D,L-laktid) je směsí poly(D,L-laktidu) o rozdílné vlastní viskozitě.
6. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, kde prostředek je směsí mikročástic, které se liší alespoň buď v hmotnostním % naltrexonu, nebo poly(D,L-laktidu) o různé vlastní viskozitě.
7. Mikročasticový prostředek podle nároku 1, kde mikročástice jsou připraveny zavedením roztoku naltrexonu a poly(D,L-laktidu) v ethylacetátu do vodného roztoku polyvinylalkoholu, z něhož se potom vznikající částice izolují extrakcí ethylacetátu vodou.
8. Mikročasticový prostředek obsahující 35 až 45 hmotnostních % naltrexonu a poly(D,L-laktidové) matrice, schopný uvolňovat v lidském těle v časovém úseku přibližně čtyř

týdnů od 10 do 40 % celkového množství uvolňovaného naltrexonu při zachování terapeutické dávky alespoň 1 ng/ml během čtyřtýdenní periody.

9. Mikročasticový prostředek podle nároku 8, kdy se pouze během jediného týdne z uvedené čtyřtýdenní periody, uvolní více než 20 % celkového uvolňovaného množství naltrexonu.
10. Forma vhodná pro injekční podávání obsahující mikročasticový prostředek podle nároku 1 a 8, karboxymethylcelulosu a manitol.
11. Injekční stříkačka obsahující prostředek podle nároku 10.
12. Způsob redukce spotřeby heroinu a alkoholu u lidí závislých buď na heroinu, či alkoholu, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se podává intramuskulárně účinná dávka mikročasticového prostředku podle nároku 1, v množství inhibujícím spotřebu heroinu a alkoholu, čímž dochází k redukci spotřeby heroinu nebo alkoholu.
13. Způsob podle nároku 12 v y z n a č u j í c í s e t í m , že podávaná dávka obsahuje vzorek od 2 do 4 ml.
14. Způsob redukce spotřeby heroinu a alkoholu u lidí závislých buď na heroinu, či alkoholu, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se podává účinná dávka mikročasticového prostředku podle nároku 1, kdy z této kompozice pokračuje uvolňování naltrexonu v účinné dávce alespoň po dobu delší než 28 dní; dříve než klesne hladina naltrexonu pod účinnou dávku, dojde k podání druhé dávky zmíněného mikročasticového prostředku, kdy se kombinací původní dávky a druhé podané dávky vytvoří účinná dávka naltrexonu pro dalších alespoň 28 dnů; opakováním zmíněného podávání se docílí uvolňování naltrexonu, jak z původně podaného mikročasticového prostředku, tak z další podané dávky mikročasticového prostředku, čímž se zachová určená účinná dávka naltrexonu.
15. Způsob podle nároku 14, v y z n a č u j í c í s e t í m , že podávaná dávka obsahuje vzorek od 2 do 4 ml.

16. Způsob redukce spotřeby heroinu a alkoholu u lidí závislých buď na heroinu, či alkoholu, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se podává intramuskulárně účinná dávka mikročasticového prostředku podle nároku 8, v množství inhibujícím spotřebu heroinu a alkoholu, čímž dochází k redukci spotřeby heroinu nebo alkoholu.