(12) **PATENT**

(19) NO (11) **338991** (13) **B1**

NORGE (51) Int Cl.
A61K 47/36 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20076083	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.06.01 PCT/EP2006/005240
(22)	Inng.dag	2007.11.26	(85)	Videreføringsdag	2007.11.26
(24)	Løpedag	2006.06.01	(30)	Prioritet	2005.06.06, IT, BO05A000388
(41)	Alm.tilgj	2007.11.26			
(45)	Meddelt	2016.11.07			

(73) Innehaver Alfa Wassermann SpA, 1, Via Enrico Fermi, IT-65020 ALANNO (PE), Italia
(72) Oppfinner Giuseppe Claudio Viscomi, Via Ragazzi del 99 No 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Giuseppe Bottoni, Via Ragazzi del 99 No. 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Paola Maffei, Via Ragazzi del 99 No. 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Annalisa Sforzini, Via Ragazzi del 99 No 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Mascia Federici, Via Ragazzi del 99 No 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Carla Caramella, Via Ragazzi del 99 No 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
Silvia Rossi, Via Ragazzi del 99 No 5, IT-40133 BOLOGNA, Italia
(74) Fullmektig Oslo Patentkontor AS, Postboks 7007 Majorstua, 0306 OSLO, Norge

(54) Benevnelse **Mukoadhesive xyloglukaninneholdende formuleringer som er anvendelige i medisinske anordninger og i farmasøytiske formuleringer**

(56) Anførte publikasjoner US 2004192640 A1

(57) Sammendrag

Målet for oppfinnelsen er frigjøringsformuleringer med mukoadhesive og kontrollerte egenskaper bestående av vandige oppløsninger inneholdende 0,05 til 5 vekt% av en naturlig renset polymer med xyloglukanstruktur og 10 til 70 vekt% glyserol. Disse formuleringer er egnet til applikasjon på humane mukøse membraner så som nese, orale og vaginale mukøse membraner, som fuktende og mykgjørende midler eller som farmasøytisk frigjøringssystem. Ytterligere mål for oppfinnelsen er farmasøytiske formuleringer og medisinske anordninger som er egnet for applikasjon på humane mukøse membraner, inneholdende de mukoadhesive og kontrollerte frigjøringsformuleringer sammen med aktive bestanddeler og eksipienter.

Område for oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse angår mukoadhesive formuleringer som er egnet for påføring til humane mukusmembraner, for anvendelse som fuktende og mykgjørende midler eller som farmasøytiske frigjøringssystemer for lokal og/eller systemisk bruk. Slike mukoadhesive formuleringer har den sammensetning som går frem av krav 1.

Mukosa er en dekkende membran for den innvendige overflaten av kroppshulrom og organiske kanaler direkte eller indirekte forbundet til det ytre, dvs. munnhulen, mage-tarm-kanalen, åndedrettskanalen og vaginalhulrommet. Til tross for enkelte forskjeller som er typiske for hvert enkelt organ, består mukøse membraner i hovedsak av et epitel som dekker hulrommet av organets eller kanalens lumen, og dypere av bindevev (*tunica propria* eller mukøs derma) med støttefunksjoner; dette vev kan være rikt på elastisk fiber og lymfocytter. Mukøse membraner fuktes ved sekresjon av kjertler inneholdt i seg eller direkte produsert av kjertelepitelet som utgjør dem. Slike fluider består i hovedsak av vann, glykoproteiner (mucin), lipider, mineralsalter og enzymer. Den grunnleggende funksjon av alle utsondrete fluider er å modulere interaksjoner mellom epitelceller og deres miljø ved hjelp av en mørings/hydreringsprosess, av en kontrollprosess ved kjemisk-fysisk og mikrobiologisk nivå av "økosystem"-hulrommene som også virker som forsvarsbarriere mot patogener.

En redusert sekresjon av fluider forårsaker unngåelige angrep av "tørrhet" som et symptom forbundet med et stort antall patologiske tilstander. Faktisk er mukøs tørrhet i de fleste tilfeller det første kliniske symptom på Sjøgrens syndrom som er en systemisk autoimmun sykdom som påvirker eksokrine kjertler som forårsaker progressivt tap av sin aktivitet. Det kliniske bilde er karakterisert av reduksjon av lakrymal og spyttsekresjon (øyetørrhet med keratokonjunktivitt, xerostomi, dysfagi) og reduksjon av vaginal mukøs og bronkialforgreningssekresjoner.

Vaginal mukøs membran består av et ikke-keratinisert lagdelt grunnleggende epitel. De mellomliggende lag av epitelet oppviser glykogenrike celler. Epitelet ligger på en *lamina propria* uten kjertler og er rike på kar, mest alt blodårer. Den mukøse membran er under fysiologiske forhold dekket av en smøringsvæske som i hovedsak dannes av uterint endometrium, endocervikale kjertler (ceriksal mukus) og større vestibularkjertler (Bartolino-kjertler) (J.R.Berman et al.,Eur. Urol., 38, 20-29, 2000).

Vaginalvæske i fruktbare kvinner er normalt sur (pH 3,5-4,5), men har likevel før puberteten så vel som etter overgangsalderen en tendens til å være alkalisk. Vaginalvæsken er viskøs hvor vann representerer hovedkomponenten (90-99%), mens mucin (glykoprotein) utgjør 0,5-5 vekt%. Mucin er ansvarlig for de kjemisk-fysiske karakteristika hos vaginalvæske, spesielt viskositet og mukoadhesive egenskaper. Vaginalvæske inneholder også plasmatiske proteiner, enzymer (protease, betaglukoronidase, sur og alkalisk fosfatase), aminosyrer, kolesterol, lipider, uorganiske ioner, melkesyre, eddiksyre og desquamerte epitelceller. I tillegg til vaginal mukus er et serumtransudat også til stede i vagina.

Mukusproduksjon og konsentrasjonene av de forskjellige komponenter varierer under menstruasjonsperioden (M.M.Garrey, "Ginecologia Illustrata", Ed. II, Pensiero Scientifico, 1974).

Produksjonen av vaginal mukus er i hovedsak kontrollert av seksualsteroider som påvirker de biofysiske egenskaper hos sekresjonen. Hormonelle forandringer kan være årsaken til en reduksjon av mukusproduksjonen med en tilsvarende reduksjon av den vaginale mukøse smøring (vaginal tørrhet). Denne tilstanden kan ofte opptre under overgangsalderen når, som en følge av reduksjonen av østrogennivåer i sirkulasjonen, genitaliene undergår anatomiske modifikasjoner med en tilsvarende endring i morfologiske og funksjonelle karakteristika. Ovarier blir sklerotisert, endometrium atroferer, glandulære komponenter har en tendens til å forsvinne, cervikale kanaler stenotiserer og cervikal mukus forsvinner, vagina blir smalere og mister sin elastisitet, vaginalveggen blir tynnere, atroferer og tørker ut. Regresjonen er meget tydelig i både vaginale og halskorioner og plasmatisk transduksjon forsvinner.

Den reduserte produksjonen av mukus eksponerer den mukøse membranen for større sårbarhet overfor infeksjoner som en følge av avslipningen som kan inntreffe under seksuelt samleie. Slik sårbarhet kan bli ytterligere forsterket av vaginale forandringer (reduksjon av intracellulært glykogen, modifikasjoner av pH og mikroflora) som er typisk for overgangsalderen (G.B.Candiani, V.Danesino, A.Gastaldi, La Clinica Ostetrica e Ginecologica, Ed. Masson, 1992). Denne tilstanden forårsaker en symptomatologi som særpreget av dyspareunia, brenning og kløe med ikke uvesentlige psykologiske og seksuelle konsekvenser.

Transient, periodisk eller vedvarende vaginal tørrhet er et vanlig problem som kan opptre på ethvert tidspunkt av levetiden hos en kvinne, fra puberteten til overgangsalderen og kan ofte gjøre seksuelt samleie smertefullt eller til og med umulig.

I tillegg til overgangsalderen, som åpenbart representerer den vanligste tilstand som forårsaker vaginal tørrhet, eksisterer mange andre grunner av enten endokrin (reduserte nivåer av sirkulerende ekstrogener) eller ikke-endokrin natur, så som hysterektomi/ovariektomi, anvendelse av kontraseptiver, amenorrhoea, vaginal mukusmembran-irritasjon, irritasjon forårsaket av mikrobielle eller kjemiske midler, behandlinger med spesielle medikamenter, Sjøgrens syndrom, diabetes mellitus og psykiske forrandringer.

Hva angår den mukøse membran i munnhulen kan spyttørrhet være et symptom på flere kliniske tilstander relatert til endokrine sykdommer, psykiske forandringer som angst og depresjon, ernæringsmangler, kraniale nervelesjoner eller også de uheldige sideeffekter av flere medikamenter så som anti-depresjonsmidler, ACE-inhibitorer, kjemoterapeutika/radioterapeutika, sympatomimetiske, anti-retrovirale, anksiolytiske og beroligende, anti-arrytmiske, anti-inflammatoriske, anti-hypertensive, anti-histamine, anti-ulcerative og neuroleptiske midler.

En reduksjon av sekresjonen involverer også tilstander relatert til en endring av det beskyttende og regulatoriske system av fysiologisk likevekt. For eksempel kan en redusert spyttproduksjon være ansvarlig for munntørrhet (xerostomia), smaksforstyrrelser, økning av karies, starten på gigival inflammasjon, stomatitis og tyggeproblemer.

Spyttørrhet kan også være et symptom relatert til kliniske tilstander så som subakutt eller kronisk faryngitis, hvor de etiologiske midler for disse sykdommer er patogene mikrobielle enheter og også irriterende substanser som atmosfæriske forurensninger, tobakksrøyk, kald og varm luft, kronisk irritasjon forårsaket av surt magemateriale (gastroøsofagisk refluks) (J.Woodley, Bioadhesion, New Possibilities for Drug Administration, Clin. Pharmacokinetic, 40, 77-84, 2001).

I lys av de ovennevnte betraktninger er det nyttig å fremskaffe medisinske innretninger og farmasøytiske preparater som i stand til å redusere eller fjerne de negative effekter som er direkte og/eller indirekte relatert til mukøs tørrhet.

Videre siden organene hvor de mukøse membraner som er til stede, også er utsatt for spesielle sykdommer og dessuten er i stand til å absorbere medikamenter, er det nyttig å gjøre tilgjengelig medikamentfrigjørende midler på slike steder.

For slike formål kan bioadhesive polymerer eller substanser som er i stand til å feste seg nært til de biologiske membraner, bli brukt, f.eks. som beskrevet i EP 0770384B1 for preparater til vaginalt bruk.

Xyloglukaner er en klasse polysakkarider som er strukturelt liknende cellulose og som er intimt assosiert til dette i celleveggen hos høyerestående planter. Videre er xyloglukaner en av hovedkomponetene som mest sannsynlig virker som energireserve, hos plantefrø så som *Tamarindus Indica* opprinnelig fra India og Sør-Øst Asia, *Detarium senegalese* Gmelin spredt i Afrika (spesielt i Nigeria), *Afzelia africana* spredt i Sentral- og Øst-Afrika og også i savanner og skoger nær kysten av Øst-Afrika og kysten av Jatoba.

Xyloglukaner er særpreget ved at de har en hovedstamme av (1,4)-β-D-glukan substituert med sidekjeder av α-D-xylopyranose og β-D-galaktopyraosyl-(1,2)-α-D-xylopyranose bundet til glykanresiduer via en α(1,6)-binding. Fordelingen av residuer i sidekjedene er forskjellig i xyloglukaner av forskjellige typer. Tre oligomere enheter har blitt identifisert i xyloglukanstrukturen nemlig monosakkarider, oktasakkarider og heptasakkarider som er forskjellige fra hverandre i antallet galaktose sidekjeder (U.Hiroshi, Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 14, 355-376, 2002).

Hovedbruken av xyloglukaner forekommer innen human og dyreernæring. Videre blir mel dannet av frø fra de ovennevnte planter inneholdende xyloglukaner, vanlig benyttet innen ernæringsindustrien som et stabiliserende, geldannende og fortykkende middel.

Anvendelsen av xyloglukaner i medisinske anordninger eller som en komponent i farmasøytiske preparater er også rapportert, dog mindre hyppig. For eksempel blir xyloglukaner benyttet som viskoserende midler i produkter benyttet som lakrymale substitutter og oppviser en sikker toksikologisk profil selv når administrert til oftalmisk mukøs membran, som er spesielt følsom overfor lesjoner og irritasjoner (M.F.Saettone er al. I US 6.056.950). WO 9729777 (M.Shozo et al.,) beskriver et xyloglukanpreparat spesielt nedbrutt med et enzym så som galaktosidase, for anvendelse som en bestanddel ved fremstilling av formuleringer med kontrollert fri-

gjøring. I henhold til dette patentet gir delvis fjerning av galaktoseresiduer fra xyloglukan høygeldannende egenskaper slik at et aktivt prinsipp inkorporert i en slik gel blir gradvis frigjort på det passende applikasjonssted.

Det har nå blitt funnet, og dette er målet for foreliggende oppfinnelse, at preparater av passende rensede xyloglukaner kombinert med passende mengder glyserol oppviser uventede mukoadhesive egenskaper. Tilstedeværelsen av glyserol øker uventet xyloglukan mukoadhesivhet.

Videre er glyserolinnholdet direkte relatert til den kontrollerte frigjøringsoppførsel av dette xyloglukanpreparat, og mukoadhesivhet vedvarer og reduserer til og med viskositeten av oppløsningen.

Beskrivelse av oppfinnelsen

Mål for oppfinnelsen er mukoadhesive og kontrollerte frigjørings-formuleringer bestående av vandige oppløsninger inneholdende 0,05 til 5 vekt% av en naturligrenset polymer som har xyloglukanstruktur og 10 til 70 vekt% av glyserol. Disse formuleringer er egnet for applikasjon på humane mukøse membraner så som nese, munn og vaginale mukøse membraner som nærende og mykgjørende midler eller som farmasøytiske frigjøringssystemer. Kombinasjonene ifølge oppfinnelsen kan bli tilsatt aktive prinsipper og eksipienter som er kjent for fagpersonen, for fremstilling av farmasøytiske preparater eller medisinske anordninger for human bruk og som er en ytterligere gjenstand for oppfinnelsen.

Diss farmasøytiske preparater og medisinske anordninger kan bli formulert som oppløsninger, geler, ovuler, sprayer, munnvask, kremer, salver, vaginalvasker og ethvert annet egnet administrasjonssystem.

Et stort antall aktive prinsipper kan bli brukt i forliggende oppfinnelse, fortrinnsvis antibiotika, antimykolytika, antiprotozoika, antivirale midler, anti-inflammatoriske midler, desinfeksjonsmidler, kjemoterapeutiske mider, bedøvelsesmidler, mukolytika, antitussiva, dekongestive midler, kalsium-absorpsjons-regulatorer, hormoner og vaksiner.

Det rensede xyloglukanet som er en ingrediens i formuleringene ifølge foreliggende oppfinnelse, blir fremstilt ved opprensing av vegetabilske ekstrakter av xyloglu-

kaner eller kommersielt tilgjengelige uferdige produkter med forskjellig renhetsgrad for anvendelse i ernæringsindustrien.

Opprenskningen utføres i henhold til den følgende fremgangsmåte. En 0,5% til 5% suspensjon, fortrinnsvis 1% til 2% av rått xyloglukan pulverekstrakt fremstilles i kaldt destillert vann. Suspensjonen blir så helt i fire ganger volumet av kokende destillert vann og oppløsningen holdes under koking i 15 til 30 minutter under omrøring. Den resulterende oppløsning oppbevares i ro i 10 til 20 timer inntil de forurensende proteiner og fibere faller ut. Oppløsningen sentrifugeres deretter ved 4000 – 8000 rpm i en tid mellom 15 og 30 minutter. Supernatanten filtreres gjennom et 6 µm polypropylenfilter og filtratet sentrifugeres ytterligere ved 12000 – 18000 rpm i en tid mellom 30 og 60 minutter. Supernatanten kan så bli sterilisert enten ved filtrering gjennom et 0,22 µm polypropylenfilter eller i autoklav ved 121ºC i en tid mellom 20 og 40 minutter. Den resulterende oppløsning kan bli direkte brukt som sådan eller bli frysetørket. Den beskrevne fremgangsmåte gir det rensede xyloglukan i et ubytte mellom 30% og 80% med hensyn til startproduktet.

En slik opprenskningsprosess gir xyloglukaner som er egnet for farmasøytisk anvendelse, og gir spesielt en sikkerhetsprofil for anvendelse i mennesker, mer spesielt for applikasjon til mukøse membraner. Opprenskningsprosessen gir et produkt med konstante teknologiske egenskaper som garanterer reproduserbarhet med hensyn til viskositet og mukoadhesivitet. Viskositet er en av de viktigere parametere som karakteriserer et produkt som et tiltenkt mukoadhesive preparater. Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen gir et renset xyloglukan med en viskositet som er egnet for omfanget av oppfinnelsen som bestemt på en 2 vekt% vandig oppløsning ved å bruke et roterende viskosimer ved temperaturen 25ºC og drift ved en skjæringsgrad på 200 sek^{-1} og en hviletid på 15 minutter.

De resulterende viskositetsverdier kan endre seg avhengig av start-råproduktet. Viskositetsverdiene som er egnet for bruk innenfor omfanget av foreliggende oppfinnelse, ligger i området mellom 150 og 800 mPa·sek.

Videre gir opprenskningsprosessen en kraftig reduksjon av protein-urenheter som er til stede i startmaterialet. Xyloglukaner som er fri for urenheter, er nødvendige ettersom mukøse områder er spesielt følsomme overfor irritasjoner. På den annen side kan administrasjon til munnhulen sette i gang anafylaktiske reaksjoner. Av denne grunn har, i henhold til oppfinnelsen, en øvre grense for UV-absorbans ved 280 nm, som er et indirekte mål for gjenværende proteiner, blitt innført. De rense-

de xyloglukaner som er egnet for oppfinnelsen, bør ha en absorpsjonsverdi ved 280 nm som er lavere enn 0,5 abs-enheter når målt i 2 vekt% vandig oppløsning ved temperaturen 25°C.

Figur 1 viser mukoadhesivitetsprofilen av formuleringer som inneholder det rensede xyloglukan ved økende glyserol-konsentrasjoner i henhold til dataene fra tabell 2 fra eksempel 3. En slik profil viser den synergistiske effekt av glyserol og xyloglukan i økende mukoadhesivitet.

Figur 2 viser at økningen i mukoadhesivitet ikke er relatert til viskositetsverdier av de respektive oppløsninger i henhold til data fra tabell 2 i eksempel 3.

Endelig viser tabell 2 i eksempel 3 at signifikante nivåer av mukoadhesivitet er sikret også ved lave viskositetsverdier, f.eks. ved verdier lavere enn 30 mPa·sek.

De sistnevnte betraktninger er spesielt relevante i lys av anvendelsene som er tiltenkt foreliggende oppfinnelse. Faktisk kan, etter administrasjon til mukosa, topiske preparater være utsatt for to fenomener som begge har en potensielt negativ innvirkning på mukoadhesivitet: faktisk vil, nær mukosaoverflaten, den kombinerte virkning av temperatur og fysiologiske væsker indusere en reduksjon av viskositet og en fortynningseffekt på preparatet. Motsatt opprettholder xyloglukan-glyserol-preparatet ifølge oppfinnelsen en mukoadhesivitet ved lave konsentrasjoner og ved et nivå som er urelatert til viskositet.

I henhold til oppfinnelsen gir tilsetningen av glyserol i konsentrasjoner mellom 10 vekt% og 70 vekt% til oppløsninger av renset xyloglukan ved en konsentrasjon mellom 0,05 og 5 vekt%, en kontrollert frigjøring av medikamenter på en måte som er direkte relatert til glyserolinnholdet og som er urelatert til viskositeten av sluttoppløsningen.

Den kontrollerte frigjøring av medikament fra oppløsninger fremstilt som beskrevet i eksempel 2 og angitt i tabell 1, har blitt vist ved å måle medikamentet som frigjøres over en Franz-celle over tid.

De kontrollerte frigjøringsegenskaper kombinert med den mukoadhesive egenskap gir konstant, forlenget frigjøring av den aktive bestanddel ved virkningsstedet, som angitt i tabell 3 for diklofenac.

Formuleringen inneholdende xyloglukan og glyserol ifølge oppfinnelsen har blitt vurdert for sikkerhet: de oppnådde resultater, angitt i eksempel 11, 12, 13, gir god lokal tolerabilitet, fravær av sensitivisering og cytotoksisitetsegenskaper.

Effektiviteten og sikkerheten av kombinasjonen ifølge foreliggende oppfinnelse er også vist ved det kliniske studium som angitt i eksempel 10, hvor bruk av en medisinsk innretning i form av en vaginal ovul, gav meget gode resultater ved behandlingen av dyspareunia grunnet vaginal tørrhet.

Den spesielle mukoadhesivitet sammen med de kontrollerte frigjøringsegenskaper av produktene ifølge oppfinnelsen, er et bestemmende særtrekk også for fremstillingen av innovative farmasøytiske former for medikamentfrigjøring. Fordelene er forbundet med muligheten for å holde den farmasøytiske bestanddel aktiv ved virkningsstedet over lengre tider, noe som øker biotilgjengeligheten. Videre tillater den økede permanenstid kombinert med den kontrollerte medikamentfrigjøring, minskning av administrasjonsfrekvensen. Slike egenskaper kan være nyttige ved administrasjon av medikamenter til orale, nasale og vaginale mukøse membraner.

Foreliggende oppfinnelse angår også medisinske anordninger og farmasøytiske preparater inneholdende, i tillegg til farmasøytiske aktive bestanddeler og eksipienter, 0,05 til 5 vekt% av renset naturlig polymer som har xyloglukanstruktur og 10 til 70 vekt% glyserol.

I henhold til foreliggende oppfinnelse er foretrukne aktive prinsipper valgt fra antiinflammatoriske midler så som diklofenac og benzidamin, hormoner så som progesteron og kasitonin. Foretrukne formuleringsformer er ovuler, geler, vasker og sprayer.

Eksempler på farmasøytiske preparater i henhold til oppfinnelser en orofaryngalspray inneholdende diklofenac, en vaginalgel inneholdende progesteron, en vaginalvask inneholdende benzidaminhydroklorid og en nesespray inneholdende kalsitonin.

Eksempler på medisinske anordninger i henhold til oppfinnelsen er en vaginalovul med hydrerende egenskaper og en orofaryngealspray med mykgjørende egenskaper.

Nevnte medisinske anordninger og farmasøytiske preparater er beskrevet i større detalj i de følgende eksempler.

Eksempel 1

Fremstilling av et renset xyloglukan

En suspensjon fremstilles ved å tilsette 200 ml kaldt destillert vann til 20 g "Glyloid"® 3S (Dainippon) i pulverform. Suspensjonen helles opp i 800 ml kokende destillert vann og oppløsningen holdes kokende i 20 minutter under magnetisk røring. Den resulterende oppløsning oppbevares i 12 timer og sentrifugeres deretter ved 5000 rpm i 20 minutter. Supernatanten filtreres gjennom et 6 µm polypropylenfilter og den resulterende oppløsning sentrifugeres ytterligere ved 15000 rpm i 30 minutter. Derpå blir oppløsningen sterilisert gjennom et 0,22 µm polypropylenfilter. Til slutt blir den resulterende oppløsning frysetørket for å oppnå 14 g av renset xyloglukanpreparat.

Viskositeten av det rensete produktet ved en konsentrasjon på 2 vekt% i en vandig oppløsning re 229 mPa·sek målt ved temperaturen 25°C med en "skjærgrad" på 200 sek^{-1} og en hviletid på 15 minutter.

Absorbansen av en 2 vekt% vandig oppløsning ved temperaturen 25°C, målt ved 280 nm, er 0,2 abs enheter.

Eksempel 2

Fremstilling av oppløsninger inneholdende natriumdiklofenac

Natrium-metyl-paraoksybenzoat oppløses i vann ved temperaturen 70°C, derpå tilsettes monobasisk dinatriumfosfat, natriumdiklofenac og glyserol til den avkjølte oppløsningen. Oppløsningen holdes under omrøring inntil fullstendig løsning.

Renset xyloglukan tilsettes deretter og oppløsningen holdes under omrøring i 8 timer inntil fullstendig svelling, og bringes deretter til 100 ml med vann.

Sammensetningene av nariumdiklofenac er angitt i Tabell 1.

Tabell 1

Komponenter	Løsning 1	Løsning 2	Løsning 3	Løsning 4
Natrium-diklofenac (%w/w)	0,08	0,08	0,08	0,08
Renset xyloglukan (%w/w)	0	0,4	0,4	0,4
Glyserol (%w/w)	30	0	10	30
Natriummetyl-paraoksybenzoat (%w/w)	0,15	0,15	0,15	0,15
Monobasisk dinatriumfosfat (%w/w)	0,22	0,22	0,22	0,22
Deionisert vann til 100 ml				

Eksempel 3

Viskositets- og mukoadhesivitetsmål av oppløsninger av natriumdiklofenac

Viskositeten av natriumdiklofenacoppløsninger fremstilt i henhold til eksempel 2 ble målt ved å bruke en reostat med en målingsgeometri med en kon plate c 60/1, er "skjærgrad" på 200 sek^{-1} og en hviletid på 3 minutter.

In vitro-målingen av mukoadhesiviteten av oppløsningene fremstilt i henhold til Eksempel 2 ble utført med skråplansmetoden som beskrevet av Sandri G. et al. (J. Pharm. Pharmacol. 56, 1083-1090, 2004). Testen utføres ved å gli prøver langs et skråstilt inert støttemateriale dekket med et grisemage mucin-lag. Absorpsjonen på mucinlaget vurderes under referanse til absorpsjonen av prøven på det ikke-dekkede skråstilte inerte støttemateriale.

500 mg av hver prøve av oppløsningene angitt i Tabell 1 innholdende det rensede xyloglukanet, plasseres på det høyeste punktet på planet skråstilt ved 60º og blandingsporsjonen som glir på planet over en tid på 2 minutter, samles opp og måles ved veiing. Viskositets- og mukoadhesivitetsverdiene av natriumdiklofenac-oppløsningene beskrevet i Eksempel 2 er angitt i Tabell 2.

Tabell 2

Oppløsninger	Viskositet (mPa·sek)	% adhesivitet for inert støttte	% adhesivitet for mucin
1	Ikke bestemt	4,3	18,0
2	7,86	14,0	28,0
3	11,32	17,8	60,0
4	28,83	18,8	58,2

Eksempel 4

Vurdering av kontrollerte frigjøringsegenskaper av en natriumdiklofenac-oppløsning

De kontrollerte frigjøringsegenskaper av en oppløsning inneholdende natriumdiklofeac fremsilt i henhold til Eksempel 2, har blitt vurdert ved å måle vaskbarheten av de viskøse blandinger i en Franz-celle.

Oppløsningene i utstyret termostatkontrollert ved 37ºC, ble vasket med fosfatbuffer ved pH 7,4 og mengden av aktiv bestanddel som ble frigjort, ble målt etter 1, 2, 3 og 4 timer. Prosentdelen av den totale mengde a frigjort natriumdiklofenac er angitt i Tabell 3.

Tabell 3

Tid (timer)	% natrium-diklofenac Oppløsning 2	% natrium-diklofenac Oppløsning 3	% natrium-diklofenac Oppløsning 4
1	31,6	26,7	6,4
2	46,4	35,5	14,02
3	48,1	38,0	24,8
4	52,7	38,0	28,8

Eksempel 5

Fremstilling av en ovul inneholdende renset xyloglukan med fuktende egenskaper

Aloe barbadensis kryodehydrert ekstrakt, fikegelatin, natriummetyl p-hydroksybenzoat, natriumetyl p-hydroksybenzoat og natriumpropyl p-hydroksybenzoat solubiliseres ved 70°C i 15 ml vann. Etter fullstendig solubilisering avkjøles oppløsningen til 25°C og renset xyloglukan tilsettes. Oppøsningen holdes under omrøring i omkring 8 timer, og bringes etter fullstendig svelling til temperturen 45°C og glyserol tilsettes.

Etter homogenisering ved blanding tilsettes deionisert vann to 30 gram totalvekt og produktet fordeles i 10 former.

Mengdene av hver komponent for fremstillingen av 10 ovuler er angitt i Tabell 4.

Tabell 4

Komponent	Vekt
Xyloglukan	300 mg
Aloe barbadensis	300 mg
Fiskegelatin	600 mg
Glyserol	10,5 g
Natriummetyl p-hydroksybenzoat	9,43 mg
Natriumetyl p-hydroksybenzoat	4,2 mg
Natriumpropyl p-hydroksybenzoat	4,81 mg
Deionisert vann til 30 gram	

Eksempel 6

Fremstilling av en vaginal gel inneholdende progesteron

Metylparahydroksybenzoat tilsettes ved 70°C i vann. Etter fullstendig oppløsning og avkjøling av oppløsningen tilsettes hydrogenerte palmeoljeglyserider inneholdende det på forhånd solubiliserte progesteron. Etter fullstendig blanding tilsettes

renset xyloglukan og blandingen holdes under omrøring i 8 timer inntil fullstendig svelling av polymeren. Til slutt tilsettes glyserol og sluttoppløsningen omrøres.

Mengdene av de forskjellige komponenter for fremstillingen av vaginalgelene er angitt i Tabell 5.

Tabell 5

Komponent	Vekt
Xyloglukan	1 g
Progesteron	8 g
Glyserol	30 g
Hydrogenerte palmeoljeglyserider	5 g
Natriummetyl para-hydroksybenzoat	0,15 g
Deionisert vann til 56 gram	

Eksempel 7

Fremstilling av en vaginalvask inneholdende benzidaminhydroklorid

Trimetylcetylammonium p-toluensulfonat, roselukt og benzidaminhydroklorid oppløses i vann. Renset xyloglukan tilsettes etter fullstendig solubilisering og oppløsningen holdes under omrøring i 8 timer inntil fullstendig svelling av polymeren. Glyserol tilsettes og sluttoppløsningen blandes inntil fullstendig homogenisering.

Mengdene av de forskjellige komponenter er angitt i Tabell 6.

Tabell 6

Komponent	Vekt
Xyloglukan	1 g
Benzidaminhydroklorid	100 mg
Glyserol	30 g
Trimetylammonium p-toluensulfonat	5 g
Roseduft	100 mg
Deionisert vann til 64 gram	

Eksempel 8

Fremstilling av en nesespray inneholdende kalsitonin

Natriumklorid, sitronsyremonohydrat, natriumcitratdihydrat og saltsyre tilsettes til 65 ml vann. Blandingen holdes under omrøring inntil fullstendig oppløsning og så blir 10 ml vann inneholdende det på forhånd stabiliserte kalsitonin tilsatt. Det rensede xyloglukan tilsettes under opprettholdelse av omrøring i 8 timer inntil fullstendig svelling av polymeren. Derpå tilsettes glyserol, oppløsningen blandes og vann tilsettes til den nødvendige vekt.

Mengdene av de forskjellige komponenter er angitt i Tabell7.

Tabell 7

Komponent	Vekt
Xyloglukan	400 mg
Kalsitonin	100.000 IU
0,1 N Saltsyre	0,15 mg
Natriumklorid	9 g
Natriumcitrat dihydrat	58 mg
Sitronsyre-monohydrat	58 mg
Glyserol	15 g
Deionisert vann til 100 gram	

Eksempel 9

Fremstilling av en orofaryngal-spray inneholdende naturlige ekstrakter

De naturlige ekstrakter, kaliumsorbat og monobasisk natrumfosfatmonohydrat tilsettes til 65 ml vann. Det rensede xyloglukan tilsettes under opprettholdelse av omrøring i 8 timer inntil fullstendig oppløsning. Vannet blir så tilsatt til det nødvendige volum.

Mengdene av de forskjellige komponenter er angitt i Tabell 8.

Tabell 8

Komponent	Vekt
Xyloglukan	400 mg
Erysmium tørrekstrakt	300 mg
Althea tørrekstrakt	200mg
Noni tørrekstrakt	300 mg
Monobasisk natriumfosfat-monohydrat	220 mg
Kaliumsorbat	100 mg
Glyserol	30 g
Deionisert vann til 100 gram	

Eksempel 10

Evaluering av effektiviteten og tolerabiliteten av ovuler inneholdende renset xyloglukan på frivillige

Effektiviteten og sikkerheten av ovuler fremstilt i henhold til Eksempel 4har blitt vurdert ved behandlingen av dyspareunia forårsaket av vaginal tørrhet hos kvinner i overgangsalderen og som ikke mottar substituitiv hormonterapi.

Målet med den åpne studien var å vurdere behandlingens effektivitet med ovulene ifølge Eksempel 4 til å redusere symptomfølgene som dyspareunia, vulvar sviing og kløe forbundet med den vaginale tørrheten.

8 kvinner i en alder mellom 45 og 65 år i overgangsalderen over nesten 3 år og uten aktive vaginale infeksjoner, har blitt vurdert i studien. Behandlingsskjemaet har diktert administrasjonen av ovulen ved vaginal rute to ganger daglig over en periode på 8 dager.

Det kliniske endepunkt har blitt vurdert ved å bruke en poengskala mellom 0 (fravær av symptomer) og 5 (meget sterke symptomer).

Alle pasienter har fullført behandlingen. Medikamentet ble godt tolerert og var effektivt både ved et lokalt og systemisk nivå som vis i Tabell 9. Ingen bieffekter har blitt observert.

Tabell 9

Pasient (Nr.)	Dyspareunia		Vulvar sviing		Vulvar kløe	
	Basal	Terapi-slutt	Basal	Terapi-slutt	Basal	Terapi-slutt
1	4	1	5	3	3	1
2	4	2	4	2	2	0
3	5	2	4	1	2	0
4	3	0	4	0	2	0
5	4	1	4	1	1	1
6	2	0	3	0	2	0
7	3	0	2	0	3	1
8	3	1	3	0	3	0
Gjennomsnitt	3,50	0,88	3,63	0,88	2,25	0,38

Eksempel 11

Lokal toleransestudie av et preparat inneholdende xyloglukan og glyserol

De lokale effekter av den orofaryngale spray fra Eksempel 9 på munnhulemembraner ble bestemt ved å undersøke lokale vevsendringer etter gjentatt tilførsel av forsøksgjenstanden i kinnposen hos syrisk hamster over en periode på 7 dager.

En gruppe som besto av 5 hanndyr og 5 hunndyr, ble behandlet daglig med det medisinske preparat ved en dose på 0,5 ml for hvert dyr over et totale på 3 ganger på samme dag med 2 timers intervaller for å gi en total daglig dose på 1,5 ml for hvert dyr.

Kontrollgruppedyr ble behandlet med sterilt vann over samme tidsperiode. Ingen indikasjoner på en systemisk effekt av forsøket ble observert under behandlingsperioden. En lett mukøs irritasjon ble observert i dyr behandlet med det medisinske preparat omtrent 1 time etter sist applikasjon og ingen reaksjon ble observert 24 timer senere, noe som således beviser den gode tolererbarhet i mukøse munnhulemembraner hos hamster.

Eksempel 12

Forsinket dermal sensitiviseringsstudie av et preparat inneholdende xyloglukan og glyserol

En marsvinmodell med testen til Magnusson og Kligman (J. Invest. Dermatol., 268-276, 1969) ble brukt for å indusere og fremskaffe forsinket dermal sensitivisering. For å indusere sensitivisering ble en forsøksgruppe på 20 dyr og en kontrollgruppe på 10 dyr injisert intradermalt med en emulsjon av Freunds fullstendige adjuvant, (bakre områder), den ufortynnede testgjenstand (midtre områder) og forsøksgjenstanden ved en konsentrasjon på 50% i en emulsjon av Freunds fullstendige adjuvant (bakre områder). En uke senere ble denne applikasjon forsterket ved topisk applikasjon av forsøksgjenstanden ved 100% over injeksjonsstedet. Kontrollgruppedyr ble behandlet med sterilt vann over samme tidsperiode. To uker etter det andre induksjonsstadium ble alle dyr utsatt for topisk applikasjon av begge vehikler.

Ved slutten av studien hadde ingen reaksjon oppstått i noe dyr av forsøks- eller kontrollgruppene og ingen reaksjon mot vehikkelen alene ble observert i noe dyr.

Eksempel 13

Celletoksisitetsassay av en oppløsning inneholdende xyloglukan og glyserol

In vitro-toksisiteten av en oppløsning inneholdende xyloglukan og glyserol har blitt vurdert på BALB/C3T3-celler og måling av nøytral rødt-opptak fr cellulær toksisitet ble utført på kulturer av BALB/C3T3-celler behandlet med forskjellige konsentrasjoner av forsøksgjenstanden, og mot slutten av behandlingen ble kulturene undersøkt for å evaluere endringer i morfologien av cellene grunnet toksisitetseffekter av forsøksgjenstanden. Negativ og positiv kontroll var inkludert i forsøket.

Forsøksgjenstanden ble solubilisert i dyrkningsmedium og konsentrasjoner som ble benyttet, var 39,1; 78,1; 156; 313; 625; 1250; 2500 og 5000 mikrogram/milliliter. Cytotoksisitet ble analysert etter 24 timers behandlingstid. Ingen endringer i morfologien av cellene og ingen relevant reduksjon i opptak av nøytral rødt ble observert etter behandling med forsøksgjenstanden i noe forsøk ved noen av de testede konsentrasjoner.

P a t e n t k r a v

1. Mukoadhesive formuleringer som er egnet for applikasjon til humane mukusmembraner omfattende kombinasjoner av en renset nøytral polymer med xyloglukan-struktur i vandig oppløsning ved konsentrasjoner mellom 0,05 og 5 vekt% samt glyserol ved konsentrasjoner mellom 10 og 70 vekt%.

2. Mukoadhesive formuleringer ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den rensede naturlige polymer som har xyloglukanstruktur, har viskositet mellom 150 mPa·sek og 800 mPa·sek ved temperaturen 25°C under drift ved en 200 sek^{-1} skjærgrad og en hviletid på 15 minutter og en absorbansverdi ved 280 nm som lavere enn 0,5 abs enheter i en 2 vekt% vandig oppløsning ved temperaturen 25°C.

3. Mukoadhsive formuleringer ifølge krav 1 og 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at de menneskelige mukøse membraner er de nasale, orofaryngeale og vaginale mukøse membraner.

4. Mukoadhesive formuleringer ifølge krav 1 til 3,
k a r a k t e r i s e r t v e d at de kan inneholde aktive farmasøytiske ingredienser og eksipienter som er egnet for farmasøytiske preparater og medisinske anordninger

5. Mukoadhesive formuleringer ifølge krav 4 i form av kontrollerte frigjøingsformuleringer.

6. Mukoadhesive kontrollerte frigjøringsformuleringer ifølge krav 5, hvor den kontrollerte frigjøring er fremskaffet ved å justere prosentdelen av glyserol i xyloglukanoppløsningen.

7. Farmasøytiske preparater og medisinske anordninger for behandling av humane mukøse membraner, omfattende aktive farmasøytiske ingredienser og eksipienter sammen med 0,05 til 5 vekt% av en renset naturlig polymer med xyloglukanstruktur og 10 til 70 vekt% glyserol.

8. Farmasøytiske preparater og medisinske anordninger ifølge krav 5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den rensede naturlige polymer med xyloglukanstruktur har viskositet mellom 150 og 800 mPa·sek ved temperaturen 25°C under

drift med en 200 sek^{-1} skjærgrad og en hviletid på 15 minutter og en absorbansverdi ved 280 nm som er lavere enn 0,5abs i en 2 vekt% vandig oppløsning ved en temperatur på 25°C.

9. Farmasøytiske preparater og medisinske anordninger ifølge krav 5 og 6, karakterisert ved at de aktive prinsipper er valgt fra antibiotika, antimykotika, antiprotozoika, antivirale midler, anti-inflammatoriske midler, desinfeksjonsmidler, kjemoterapeutika, bedøvelsesmidler, antiseptika, mukolytika, antitussiva, dekongestive midler, kalsiumabsorpsjons- og regulerende midler, hormoner og vaksiner.

10. Farmasøytske preparater og medisinske anordninger ifølge krav 5 til 7, karakterisert ved at de er i form av oppløsninger, geler, ovuler, sprayer, munnvasker, kremer, salver, unguenter og vasker.

11. Farmasøytiske preparater i form av en orofaryngealspray inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med sur diklofenac eller salter derav.

12. Farmasøytisk preparat i form av en vaginalgel inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med progesteron.

13. Farmasøytisk preparat i form av en vaginalvask inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med benzidaminhydroklorid.

14. Farmasøytisk preparat i form av en oralspray inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med benzidaminhydroklorid.

15. Farmasøytisk preparat i form av en nesespray inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1og 2 sammen med kasitonin.

16. Medisinsk anordning i form av en vaginal ovul med fuktende aktivitet inneholdende en mukoahesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med eksipienter.

17. Medisinsk anordning i form av en orofaryngealspray med mykgjørende aktivitet inneholdende en mukoadhesiv formulering ifølge krav 1 og 2 sammen med esipienter.

18. Renset naturlig polymer med xyloglukanstruktur, k a r a k t e r i s e r t v e d viskositetsverdier mellom 150 og 800 mPa·sek ved temperaturen 25°C ved drift med en 200 sek^{-1} skjærgrad og en hviletid på 15 minutter og ved en absorbansverdi ved 280 mm lavere enn 0,5 abs i en 2 vekt% vandig oppløsning ved temperaturen 25°C.

19. Renset naturlig polymer med xyloglukanstruktur ifølge krav 18, k a r a k t e r i s e r t v e d at den er laget fra tamarindfrø.

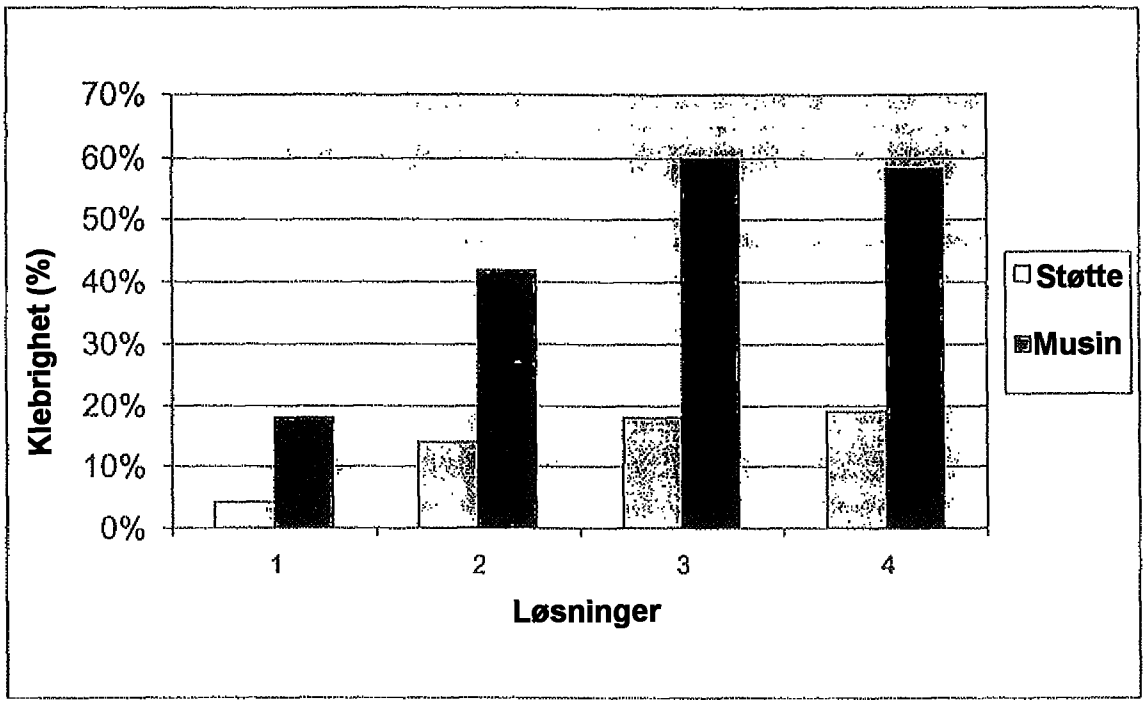
20. Fremgangsmåte for opprenskning av en naturlig polymer xyloglukanstruktur som består av å suspendere 0,5 til 5 vekt% av et ekstrakt av rått xyloglukan i et volum av kaldt destillert vann, helle opp den oppnådde suspensjon i et fire ganger større volum av kokende destillert vann, holde under koking og omrøring i 15 til 30 minutter, la stå over en tid på mellom 10 og 20 timer, sentrifugere ved 4000 – 8000 rpm i en tid mellom 15 og 30 minutter, filtrere supernatanten gjennom et 6 µm polypropylenfilter, ytterligere å sentrifugere filtratet ved 12000 – 18000 rpm i en tid mellom 30 og 60 minutter og sterilisere filtratet gjennom et 0,22µm polypropylenfilter eller i en autoklav ved 121°C i en tid mellom 20 og 40 minutter.

21. Fremgangsmåte ifølge krav 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at det rå xyloglukanekstrakt er et ekstrakt fra tamarindfrø.

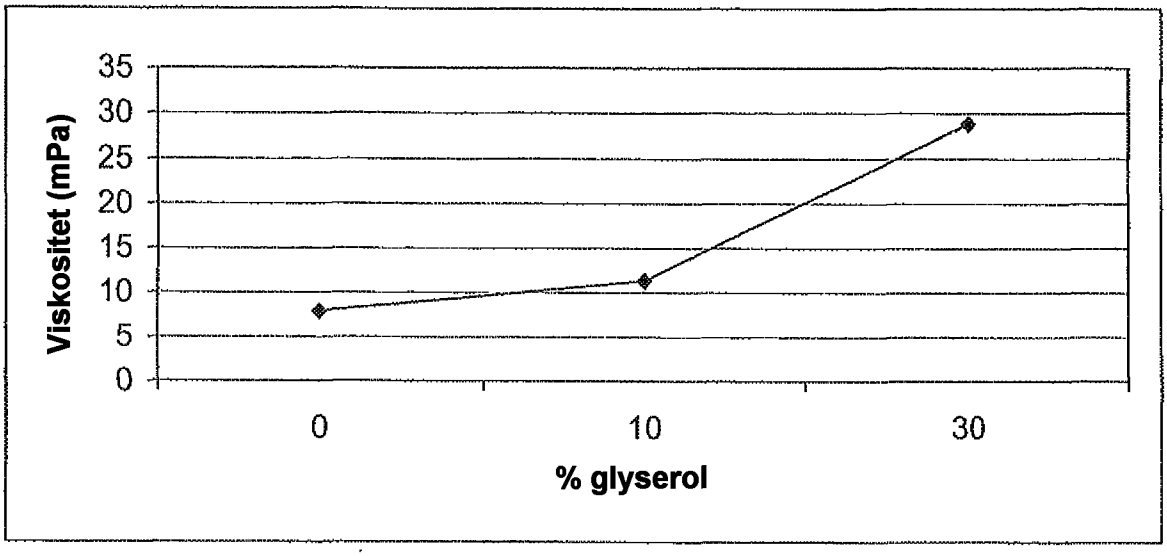
22. Fremgangsmåte ifølge krav 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at det rå xyloglukanekstrakt er et ekstrakt av *Detarium senegalense Gmelin*.

23. Fremgangsmåte ifølge krav 20, k a r a k t e r i s e r t v e d at det rå xyloglukanekstrakt er et ekstrakt av *Afzelia africana*.

Ark 1/2



Figur 1



Figur 2