(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 970867 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 970867

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **04.08.1995**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **28.02.1997**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **08.04.1997**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **04.08.1995 PCT/GB1995/001861**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

04.08.1994 GB 9415810 02.12.1994 US 349029

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Quadrant Drug Delivery Limited, 1 Mere Way, Ruddington, Nottingham, NG11 6JS, ISO-BRITANNIA, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Roser, Bruce Joseph, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
2 • Colaco, Camilo, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
3 • Jerrow, Mohammed Abdel Zahra, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
4 • Blair, Julian Alexander, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
5 • Kampinga, Jaap, Netherlands, ALANKOMAAT, (NL)
6 • Wardell, James Lewis, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
7 • Duffy, John Alistair, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Forssén & Salomaa Oy, Lautatarhankatu 8 B, 00580 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Kiinteät, annostelusysteemit hallittua vapautumista varten, joihin sys teemeihin molekyylit on sisällytetty ja menetelmät niiden valmistamise ksi

Fasta doseringssystem för kontrollerad frigöring av molekyler som är i nneslutna i dessa och förfaranden för framställning av dem

(57) Tiivistelmä - Sammandrag - Abstract

Esillä olevan keksinnön kohteena ovat vieraiden aineiden annostelua varten tarkoitetut kiinteät annostusjärjestelmät. Suositeltavat annostusjärjestelmät ovat sopivia bioaktiivisten materiaalien annostelua varten ihonalaiseen ja ihonsisäiseen, lihaksensisäiseen ja laskimonsisäiseen kudokseen, tällaisen annostusjärjestelmän ollessa mitoitettu ja muotoiltu tunkeutumaan orvaskeden läpi. Annostusjärjestelmät käsittävät lasimaisen välineen, johon vieras aine on asetettu ja joka kykenee vapauttamaan vieraan aineen in situ erilaisilla hallilla nopeuksilla. Esillä olevan keksinnön kohteena ovat lisäksi menetelmät tällaisten kiinteiden annostusjärjestelmien valmistusta ja käyttöä varten.
Föreliggande uppfinning avser fasta doseringssystem för administration av främmande ämnen. Fördelaktiga doseringssystem är lämpliga för dosering av bioaktiva material till subkutana och intradermala, intramuskulära, intravenösa vävnader, varvid doseringssystemet är dimensionerat och format för att genomtränga epidermis. Doseringssystemet innefattar ett vitröst verktyg, i vilket det främmande ämnet placerats och det har förmåga att frigöra det främmande ämnet in situ med olika hastigheter. Föreliggande uppfinning avser vidare förfaranden för framställning och användning av fasta doseringssystem.

Inhaloitavaksi soveltuva hiukkasmainen koostumus terapeuttiseen käyttöön, menetelmä koostumuksen valmistamiseksi ja koostumusta sisältävä väline

Partikelformig sammansättning för terapeutisk användning som passar för inhalering, förfarande för framställning av sammansättning och medel innehållande sammansättning

Keksinnön ala

Esillä olevan keksinnön kohteena ovat inhaloitavaksi soveltuva, lääkeainetta sisältävä koostumus, menetelmät tällaisen koostumuksen valmistamiseksi ja koostumusta sisältävän väline, jonka avulla aine annostellaan keuhkoihin.

Keksinnön tausta

Kiinteitä annostelujärjestelmiä voidaan käyttää useina erilaisina sovelluksina, kuten labiilien molekyylien, erityisesti bioaktiivisten materiaalien, kuten lääkeaineiden, entsyymien, rokotteiden ja biologisten torjunta-aineiden, kuten lannoitteiden, tuholaismyrkkyjen ja feromonien hallituksi vapauttamiseksi.

Bioaktiivisen materiaalin kiinteiden annosten jakaminen biologisiin kudoksiin, kuten limakalvo-, iho-, silmä-, ihonalaisiin, ihonsisäisiin ja keuhkokudoksiin tarjoaa käyttöön useita etuja aikaisemmin tunnettuihin menetelmiin, kuten paikalliseen nesteiden annostelun, ihon kautta ns. "transdermaalisten laastareiden" välityksellä annettuihin lääkkeisiin ja ihonalaisiin ruiskeisiin verrattuna. Kiinteiden annosten jakaminen voi käsittää kiinteän annoksen suoran ihon kautta tapahtuvan jakamisen, joka vähentää tulehdusvaaraa poistamalla tavanomaiset neulojen ja ruiskujen käyttötarpeen ja mahdollistaa useita annoksia sisältäviä pieniä lääkepullojen tarkemman annostuksen sekä minimoi tai eliminoi ihonalaisiin ruiskeisiin usein liittyvän epämukavuuden. Useita kiinteitä annostelujärjestelmiä on kehitetty, mukaanlukien järjestelmät, joiden yhteydessä käytetään transdermaalisia ja ballistisia annostuslaitteita.

Haavojen parantamiseksi on käytetty useiden bioaktiivisten materiaalien, kuten antibioottien, paikallista annostelua. Näitä paikallisia voiteita, geelejä jne. on käytettävä toistuvasti uudelleen tehokkaan vaikutuksen aikaansaamiseksi. Tämä on erityisen vaikeaa palohaavojen ja haavaumien ollessa kysymyksessä.

Ihon kautta annettavia lääkeaineita varten tarkoitetut laitteet käsittävät tavallisesti laminoidut yhdistetyt rakenteet, jotka on varustettu lääkeaineen varastokerroksella yhdistelmärakenteessa, joka asetetaan iholle, toisin sanoen transdermaalinen laastari, joka on selostettu US-patenttijulkaisussa nro 4 906 463. Monet lääkeaineet eivät ole kuitenkaan sopivia ihon kautta tapahtuvaa annostusta varten, eivätkä niiden annostusnopeudet riitä tällaisen annostelun täydelliseksi suorittamiseksi.

Ihon alle istutettavia terapeuttisia järjestelmiä on myös kehitetty tiettyjen lääkeaineiden hitaaksi vapauttamiseksi pitkinä ajanjaksoina, kuten kuukausien tai vuosien aikana. Yleisesti tunnettuna esimerkkinä tästä voidaan mainita Norplant, jota käytetään steroidihormonien annosteluun.

Kalvoläpäisytyyppisessä hallituissa lääkeaineen annostelussa lääkeaine on koteloitu varastosäiliön sisälle, joka on suljettu läpäisynopeutta rajoittavan polymeerikalvon sisälle. Lääkeainevarasto voi sisältää joko lääkeainehiukkasia tai kiinteän lääkeaineen nestedispersion (tai -liuoksen) nestemäisessä tai matriisityyppisessä dispersioväliaineessa. Polymeerikalvo voidaan valmistaa homogeenisesta tai heterogeenisesta huokosettomasta polymeerimateriaalista tai mikrohuokoisesta tai puoliläpäisevästä kalvosta. Lääkeainevaraston kotelointi polymeerikalvon sisälle voidaan toteuttaa valamalla, koteloimalla, mikrokoteloimalla tai muiden tekniikkojen avulla. Istutteet vapauttavat lääkeaineet sen liuetessa sisemmässä ytimessä, hitaan diffuusion tapahtuessa ulkoisessa matriisin läpi. Tämäntyyppisen istutettavan terapeuttisen järjestelmän toteuttaman lääkeaineen vapautumisen olisi oltava suhteellisen vakio ja se on suuressa määrin riippuvainen lääkeaineen dissoluutionopeudesta polymeerikalvossa tai diffuusionopeudesta mikrohuokoisen tai puoliläpäisevän kalvon läpi. Sisempi ydin voi pääasiallisesti liueta ajan kuluessa. Kuitenkin nykyisin käytössä olevissa laitteissa ulkoinen matriisi ei liukene.

Istutteet asetetaan ihon sisälle tekemällä ihoon viilto ja pakottamalla istutteet ihon ja lihaksen väliin. Niiden käytön loppuvaiheessa hajoamattomat istutteet poistetaan

kirurgisella tavalla. US-patenttijulkaisussa nro 4 244 949 selostetaan istute, jonka ulkoinen matriisi on tehty inertistä muovista, kuten polytetrafluorietyleenihartsista. Esimerkkeinä tällaisesta istutettavista terapeuttisista järjestelmistä voidaan mainita Progestasert IUD ja Ocusert-järjestelmä.

Muut istutettavat terapeuttiset järjestelmät sisältävät matriisidiffuusiotyyppisen hallitun lääkeaineen annostelun. Lääkeainevarasto on muodostettu lääkeainehiukkasten homogeenisen dispersion avulla rasva- tai hydrofiiliseen polymeerimatriisiin. Lääkeainehiukkasten dispersio polymeerimatriisiin voidaan saada aikaan sekoittamalla lääkeaine viskoosiin nestemäiseen polymeeriin tai puolikiinteään polymeeriin huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen polymeeri ristikytketään, tai sekoittamalla lääkeainehiukkaset sulatettuun polymeeriin korkeammassa lämpötilassa. Se voidaan valmistaa myös liuottamalla lääkeainehiukkaset ja/tai polymeeri orgaaniseen liuottimeen, minkä jälkeen tämä liuotin sekoitetaan ja haihdutetaan liuotin muotissa korkeamman lämpötilan tai tyhjön alaisena. Lääkeaineen vapautusnopeus tästä annostelulaitteesta ei ole vakio. Esimerkkeinä tyypiltään tällaisesta istutettavasta terapeuttisesta järjestelmästä voidaan mainita ehkäisyvälineenä käytetty emätinrengas ja Compudose-istute. Julkaisussa PCT/GB90/00497 selostetaan hitaasti vapautuvia lasimaisia järjestelmiä, jotka on tarkoitettu istutettavien laitteiden muodostamiseen. Tässä yhteydessä selostetut istutteet ovat bioabsorboituvia, eikä niitä tarvitse kirurgisesti poistaa. Ne asetetaan kuitenkin kirurgisesti paikoilleen. Näiden laitteiden käyttö on lisäksi huomattavasti rajoitettua käytettävän bioaktiivisen materiaalityypin yhteydessä, sillä niiden on kestettävä lämmön ja/tai liuottimien vaikutusta voidakseen tulla sisällytetyksi annostuslaitteeseen.

Mikrovaraston tapauksessa hallitun dissoluution lääkeaineen annostelun yhteydessä lääkeainevarasto, joka käsittää lääkeainehiukkasten suspension veteen sekoittuvan polymeerin vesipitoisessa liuoksessa, muodostaa useita erillisiä liukenemattomia mikroskooppisia lääkeainevarastoja polymeerimatriisissa. Mikrodispersio voidaan saada aikaan käyttämällä energialtaan suurta dispersiotekniikkaa. Lääkeaine vapautuu tyypiltään tällaisesta annostuslaitteesta joko pintojen välisen jakautumisen tai matriisin hallitun diffuusion prosessin avulla. Esimerkkinä tällaisesta lääkeaineen annostuslaitteesta voidaan mainita Syncro-Mate-C Implant.

Valettujen polymeeri-istutteiden yhteydessä ei voida käyttää bioaktiivisia materiaaleja, jotka eivät kykene kestämään orgaanisia liuottimia. Kysymyksen ollessa suulake-

puristetuista polymeerijärjestelmistä bioaktiivisesti materiaalit, jotka eivät kykene kestämään istutteiden muodostamista varten tarvittavia korkeita lämpötiloja, eivät ole sopivia käytettäviksi. Kaikissa tapauksissa bioaktiivisia materiaaleja, jotka ovat keholämpötilassa pysymättömiä pitkien ajanjaksojen ajan, ei voida käyttää.

Useita sovelluksia on valmistettu aerosolin muodossa käytettäviksi limakalvojen pinnalla, erityisesti "sisäänhengittämällä" (nenä-nielun alueella ja keuhkoissa). Sisäänhengitettävät koostumukset farmaseuttisessa annostelussa käsittävät yleensä nestemäisessä muodossa olevan lääkeaineen ja laitteen sen annostelemiseksi aerosolina. US-patenttijulkaisussa 5 011 678 selostetaan sopivia koostumuksia, jotka sisältävät farmaseuttisesti vaikuttavan aineen, biologisesti yhteensopivan yleisliuokoisen steroidin ja biologisesti yhteensopivan (hiilivetyyn tai -fluoriin perustuvan) ponneaineen. US-patenttijulkaisussa nro 5 006 343 selostetaan sopivia koostumuksia, jotka sisältävät liposomeja, farmaseuttisesti aktiivisia aineita ja tietyn määrän alveolaarista pinta-aktiivista proteiinia, joka tehostaa liposomien siirtymistä keuhkojen pinnan poikki.

Yhtenä aerosolien muodossa olevien aineiden käytön haittana on se, että lääkeaineiden pitäminen vesipitoisissa suspensioissa tai liuoksissa voi johtaa agregoitumiseen ja tehon ja biologisen hyötyosuuden kadottamiseen. Tehon menettäminen voidaan osittain estää jäähdytyksen avulla, mutta tämä kuitenkin rajoittaa näiden aineiden käyttöä. Tämä pitää erityisesti paikkansa peptidien ja hormonien yhteydessä. Esimerkiksi synteettiset gonadotropiinia vapauttavat hormonianalogit (GnRH), kuten agonisti nafareliini tai antagonisti ganireleksi, on suunniteltu suurta tehoa, lisääntynyttä hydrofobisuutta ja kalvosidontaa silmällä pitäen. Näillä yhdisteillä on riittävä vettä hylkivä luonne aggregoitumiseen vesipitoisessa liuoksessa ja määrätyn rakenteen muodostamiseksi, jonka viskositeetti lisääntyy ajan mukana. Siten niiden biologinen hyötyosuus nenä- ja keuhkovalmisteilla voi olla kohtuuttoman alhainen. Jauhemaisten aineiden käytön avulla useat näistä haitoista vältetään. Tällaisten jauheiden vaadittu hiukkaskoko on 0,5-5 mikronia syvälle keuhkorakkuloihin ulottuvan annostelun saavuttamiseksi keuhkoannostuksen yhteydessä. Valitettavasti hiukkaskooltaan tällaiset jauheet pyrkivät imemään itseensä vettä ja kokkaroitumaan heikentäen siten jauheen levittäytymistä syvällä keuhkorakkuloissa oleviin tiloihin. Vaikka hiukkaskooltaan suuremmat jauheet ovat sopivia annostusta varten nenä-nielun alueelle, jauheiden kokkaroitumistaipumus vähentää näiden hiukkasten käytettävissä olevaa kontaktipinta-alaa ja siten niiden adsorptiota mainittujen kalvojen kautta. Nykyisin käytetään laitteita, jotka hajoittavat

sähköstaattisten vuorovaikutusten muodostamat kokkareet (esimerkiksi Turbohaler™-laitetta). Nämä laitteet eivät kuitenkaan hajoita kosteuden aikaansaamia kokkareita. Olisi edullista käyttää jauheita, jotka eivät ime itseensä kosteutta eivätkä kokkaroidu, eivätkä estä siten lääkeaineen tehokasta keskittymistä keuhkojen alueelle.

Kiinteän annostelun välineitä ballistista ihon kautta tapahtuvaa annostelua varten on myös kehitetty. Esimerkiksi US-patenttijulkaisussa nro 3 948 263 selostetaan eläinlääketieteellistä käyttöä varten tarkoitettu ballistinen eläinistute, joka käsittää bioaktiivista materiaalia ympäröivän ulkoisen polymeerikuoren. Samaten myös US-patenttijulkaisussa nro 4 326 524 selostetaan kiinteä annostusta varten tarkoitettu ballistinen projektiili, joka käsittää bioaktiivisen materiaalin ja inertin sideaineen ilman ulkoista koteloa. Annostus tapahtuu painekaasun tai räjäytyksen avulla. Gelatiinilla päällystettyjä rauhoittavia aineita sisältäviä ballistisia projektiileja on myös selostettu US-patenttijulkaisussa nro 979 993. Nämä ballistiset välineet sopivat kuitenkin vain suurille eläimille eläinlääketieteellisiin sovelluksiin johtuen annettavan annoksen suhteellisen laajasta koosta, joka on yleensä millimetrien suuruusluokkaa.

Ballistinen annostus solutasolla on myös osoittautunut menestykselliseksi. Ballistisen annostuksen yleisperiaatteena on yliääniaaltorintaman käyttö, jonka aiheuttaa painekaasun vapautuminen ja jonka tarkoituksena on ajaa eteenpäin viereen liitetyn kammion sisältämiä hiukkasia. Esimerkiksi volframista tehtyihin mikroprojektiilihiukkasiin imeytettyjä nukleiinihappoja on menestyksellisesti annosteltu eläviin epidermaalisiin kasvisoluihin. Tässä yhteydessä viitataan Kleinin julkaisuun Nature (1987) 327: 70-73. Eräänä paremmin hallittuna laitteena voidaan mainita hiukkasvirtauspistooli (PIG), Vain et al (1993), Plant Cell Tissue and Organ Culture 33: 2246.

On selostettu laitteita, jotka laukaisevat lääkeainetta sisältäviä ampulleja kaasunpainetta käyttäen, esimerkiksi US-patenttijulkaisussa nro 4 790 824 ja julkaisussa PCT/GB94/00753. Useita juoksevia väliaineita ruiskuttavia laitteita on myös selostettu US-patenttijulkaisuissa nrot 5 312 335 ja 4 680 027. Kuitenkin on olemassa vain harvoja sovelluksia, jotka ovat sopivia ballistista annostelua varten. Lääkeaineiden jauhemaiset koostumukset nykyisessä muodossaan eivät ole sopivia ballistista annostelua varten. Käytössä olevien jauhetyyppien sisältämät hiukkaset ovat yleensä muodoltaan epäsäännöllisiä, kooltaan ja tiheydeltään vaihtelevia. Tämä yhtenäisyyden puute johtaa jauhekasautumiin ja ihon pinnalla tapahtuviin häviöihin annostelun aikana, sekä

myös ihonsisäisen ja -alaisen annostelun syvyyden hallintaan ja koostumukseen liittyviin ongelmiin.

Ballistista annostelua varten olisi siten edullista saada käyttöön kiinteitä annostelujärjestelmiä, joiden yhteydessä annoksilla on määrätty koko, muoto, tiheys ja dissoluutionopeus, yhtenäisemmän annostuksen saavuttamiseksi. Lisäetuja saataisiin, jos käytettävän välineen muotoa voitaisiin hallita orvaskeden ja ihon kovien kerrosten läpi tapahtuvan tunkeutumisen helpottamiseksi tai hallitsemiseksi. Annostusjärjestelmän pieni koko, sopivimmin yhdessä liikemäärältään suuren annostelun kanssa, lisäisi myös annostelun mukavuutta ja minimoisi kudosvauriot. Tällaisen kiinteän annostusjärjestelmän valmistusmenetelmän tulisi olla sellainen, että annostusväline tai annosteltava vieras annosteltava aine ei vahingoitu eikä sen tehokkuus vähene. Vieraan aineen tulisi lisäksi säilyä muuttumattomana sitä asetettaessa tähän välineeseen tai sen sisään, niin että voidaan saavuttaa tehokas annostelu ja tämän aineen sisältävän annostusjärjestelmän varastointi helpottuu. Kiinteää annostelua antavan laitteen valmistuksen ja sen varustamisen vieraalla materiaalilla kiinteän annostusjärjestelmän saavuttamiseksi sekä tämän järjestelmän avulla tapahtuvan annostelun olisi myös oltava suhteellisen yksinkertaista ja taloudellista.

Kaikki edellä mainitut viitejulkaisut on sisällytetty mukaan tähän yhteyteen.

Keksinnön yhteenveto

Esillä olevan keksinnön kohteena olevalle hiukkasmaiselle koostumukselle terapeuttiseen käyttöön on tunnusomaista se, mitä on esitetty patenttivaatimuksen 1 tunnusmerkkiosassa.

Esillä olevan keksinnön kohteena olevalle välineelle terapeuttisen aineen antoon keuhkojen kautta on tunnusomaista se, mitä on esitetty patenttivaatimuksen 13 tunnusmerkkiosassa.

Esillä olevan keksinnön kohteena olevalle menetelmälle hiukkasten valmistamiseksi on tunnusomaista se, mitä on esitetty patenttivaatimuksen 14 tunnusmerkkiosassa.

Keksintö tarjoaa käyttöön kiinteät lasimaiset annostusvälineet, joihin voidaan sisällyttää useita erilaisia vieraita aineita kiinteiden annostusjärjestelmien saavuttamiseksi. Näiden

lasimaisten annostusvälineiden valinnan määrittää käytettävien vieraiden aineiden luonne ja vieraan aineen haluttu annostusnopeus. Suuri määrä annostusnopeuksia ja -tyyppejä on käytettävissä. Suositeltavia vieraita aineita, puskuriaineita, ja apuaineita ja stabiloivia aineita on myös käytettävissä. Annostusjärjestelmät voidaan mitoittaa ja muotoilla useita erilaisia annostustapoja varten.

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat nopeasti liukenevat kiinteät annostusjärjestelmät, jotka käsittävät stabiloivan polyolin (SP) ja vieraan aineen. Nämä annostusjärjestelmät voidaan muodostaa hiukkaskooltaan homogeenisina jauheina ja laajempina istutettavina sovellusmuotoina.

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat myös uudenlaiset lasimaiset välineet, jotka on tehty vettä hylkivistä hiilihydraattijohdannaisista (HDC:t). Nämä HDC:t ovat myrkyttömiä ja vieraiden aineiden vapautumista näistä järjestelmistä voidaan tehokkaasti hallita niiden vapauttamista varten pitkinä ajanjaksoina. Vapautus HDC-annostusjärjestelmistä voidaan suorittaa kiteytymisen, dissoluution ja/tai hydrolyysin avulla. HDC-annostusjärjestelmät sopivat ainutlaatuisesti vettä hylkivien vieraiden aineiden, kuten tuholaismyrkkyjen, feromonien, steroidihormonien, peptidien, peptidijäljitelmien, antibioottien ja muiden orgaanisten lääkeaineiden, kuten synteettisten kortikosteroidien, keuhkoputkia laajentavien aineiden ja immuunimodulaattorien ja immuunisupressivien, kuten syklosporiini A:n (CSA), annosteluun.

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat myös erilaisten lasimaisten välineiden yhteiskoostumukset, joiden avulla muodostetaan uudenlaisia yhdistettyjä annostusjärjestelmiä. Nämä yhdistetyt annostusjärjestelmät käsittävät HDC:t, jotka on yhdistetty SP:hin ja/tai muihin hitaasti veteen liukeneviin lasimaisiin materiaaleihin, kuten karboksylaatti-, nitraatti- ja fosfaattilaseihin, kiinteiden annostusjärjestelmien muodostamiseksi useilla uusilla ominaisuuksilla varustettuina.

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat monivaiheista annostelua varten tarkoitetut kiinteät annostusjärjestelmät, jotka käsittävät ulkoisen osan, joka sisältää HDC:n, joka liukenee hitaasti vesipitoiseen liuokseen, jossa on ontto kotelosäiliö ja jonka sisäinen osa on asetettu tähän säiliöön, tämän sisäisen osan sisältäessä ainakin yhden SP:n ja terapeuttisesti tehokkaan määrän ainakin yhtä vierasta ainetta.

Keksintö tarjoaa käyttöön myös menetelmät bioaktiivisten materiaalien annostelemiseksi käyttämällä edellä selostettua kiinteää annostusjärjestelmää biologiselle kudokselle annostelemiseksi. Annostus voi tapahtua limakalvon, tai suun kautta, paikallisesti, ihonalaisesti tai ihon kautta, lihaksen kautta tai laskimonsisäisesti tai sisäänhengityksen välityksellä.

Keksintö tarjoaa käyttöön myös menetelmät kiinteiden annostusjärjestelmien valmistamiseksi. SP ja/tai HDC, vieraat aineet ja mitkä tahansa muut komponentit sekoitetaan yhteen ja niitä käsitellään minkä tahansa menetelmän avulla, mukaanlukien liuottaminen sulaan massaan ja sen jälkeen tapahtuva vesijäähdytys, suihkutuskuivaus, kylmä-, kuiva- tai tyhjökuivaus, leijupetikuivaus, yhteissaostus ja superkriittinen väliainehaihdutus. Tulokseksi saatu lasi voidaan kuumentaa pehmentämistä varten ja sen jälkeen suulakepuristaa, vetää tai kehrätä kiinteiksi tai ontoiksi kuiduiksi. Kuivatut komponentit voidaan myös sekoittaa vesipitoisiin tai orgaanisiin liuoksiin ja kuivata, esimerkiksi suihkutuskuivauksen, kylmäkuivauksen, ilma-, tyhjö- tai leijupetikuivauksen, yhteissaostuksen ja superkriittisen väliainehaihdutuksen avulla.

Keksintö tarjoaa lisäksi käyttöön menetelmät kiinteiden annostusjärjestelmien valmistamiseksi, jotka ovat sopivia vieraiden aineiden hidasta tai jaksottaista vapauttamista varten. Nämä menetelmät käsittävät vieraiden aineiden yhdistämisen stabiloivien lasia muodostavien polyolien ja/tai HDC:n ja/tai muiden lasinmuodostusaineiden kiinteisiin liuoksiin, joiden hajoamis- ja dissoluutionopeudet ovat hitaampia kuin SP:n yhteydessä, sekä komponenttien käsittelyn edellä selostetulla tavalla. Materiaalien välistä suhdetta voidaan säätää useiden tarkasti määritettyjen vapautusnopeuksien aikaansaamiseksi. SP:n ja HDC:n yhteiskoostumukset ja muut vesiliukoiset ja/tai biologisesti hajoavat lasit, muovit ja niiden muodostamat muut lasimuutosaineet ovat myös esillä olevan keksinnön kohteena.

Keksinnön mukaiset kiinteät annostusjärjestelmät ja menetelmät sisältävät myös kiinteät annosmuodot, jotka käsittävät kokojakaumaltaan suhteellisen homogeeniset kuidut, pallot, pillerit, kiekkolevyt, hiukkaset ja neulat. Välineet voivat olla joko mikroskooppisia tai makroskooppisia.

Useita vieraita aineita voidaan käyttää esillä olevan keksinnön mukaisesti, mukaanlukien rajoittamattomassa mielessä diagnostiset, terapeuttiset, ennalta ehkäisevät ja muut vaikuttavat aineet. Nämä annostusjärjestelmät ja niiden käyttömenetelmät sisältävät siten useita annostusjärjestelmiä vieraiden aineiden annostelemiseksi ja ne sopivat useita käyttötarkoituksia varten, mukaanlukien maatalouteen, eläinlääketieteeseen ja ihmisiin liittyvät sovellukset.

Piirustusten lyhyt kuvaus

Kuvio 1 esittää graafisesti sisäänhengityksen avulla sopivasti annosteltavan hienojakoisen trehaloosilasijauheen tyypillistä hiukkaskokojakautumaa. Kuvio 1 selostetaan esimerkin 2 yhteydessä.

Kuvio 2A esittää graafisesti kapeaa hiukkaskokojakautumaa trehaloosi/molekyylisen vesipumppupuskurisuolalasijauheen (MWPB) yhteydessä. Kuvio 2B esittää graafisesti erilaisten trehaloosi/MWBS:stä ja trehaloosi/kloridista tehtyjen lasijauheiden vesiabsorptiota ympäristölämpötilassa ja erilaisten suhteellisten kosteuksien alaisena tapahtuvan varastoinnin jälkeen. Kuvio 2B esittää 51 prosentin suhteellista kosteutta ja MWPB:tä (*), 80 % suhteellista kosteutta ja MWPB:tä (|), 51 % suhteellista kosteutta ja kloridia ( ) ja 80 % suhteellista kosteutta ja kloridia (X). Kuvio 2 on selostettu esimerkin 2 yhteydessä.

Kuvio 3 esittää graafisesti ruiskutuskuivauksen avulla Lab-plant ruiskutuskuivurissa saadun trehaloosilasijauheen kapeaa hiukkaskokojakautumaa. Kuvio 3 on selostettu esimerkin 2 yhteydessä.

Kuvio 4 esittää graafisesti kahden erilaisen ruiskutuskuivurin (Lab-Plant ( ) ja Buchi (Δ)) avulla valmistettujen trehaloosilasijauheiden (0,5M trehaloosia/0,5M kalsiumlaktaattia) sisältämien jyrkkien hiukkaskokojakautumien vertailua. Kuvio 4 on selostettu esimerkin 2 yhteydessä.

Kuvio 5A esittää graafisesti piparjuuriperoksidaasin vastustuskykyä asetonin suhteen, joka on saatu aikaan kuivattamalla entsyymi trehaloosin avulla. Keskiarvot on esitetty ei liuotinta plus trehaloosia varten (○), ei liuotinta miinus trehaloosia (*), asetonia plus trehaloosia (alaspäin avoin neliö) varten ja asetonia miinus trehaloosia (ylöspäin avoin

neliö) varten. Kuvio 5B esittää graafisesti emäksisen fosfataasin vastustuskykyä asetonin suhteen, joka on saatu aikaan kuivattamalla entsyymi trehaloosin avulla. Kuviossa 5B avoimet ympyrät edustavat ei liuotinta plus trehaloosia, suljetut ympyrät ei liuotinta miinus trehaloosia, alaspäin olevat neliöt edustavat keskimääräistä asetonia plus trehaloosia ja ylöspäin avoin neliö keskimääräistä asetonia miinus trehaloosia. Kuvio 5 on esitetty esimerkin 3 yhteydessä.

Kuvio 6 esittää graafisesti MB9:n vapautusta valituista metallikarboksylaattilasikalvoista. Neliöt esittävät alumiiniheksanoaattikalvoa (100-200 mikronia), jossa vapautus edeltää kalvon dissoluutiota. Ympyrät edustavat kalsiumneodekanoaattikalvoa (1-2 mm), jossa vapautus seuraa kalvon dissoluutiota. Kuvio 6 on selostettu esimerkin 7 yhteydessä.

Kuvio 7 esittää graafisesti koteloidun Acid Blue 129 väriaineen poistonopeutta α-D-glukoosipenta-asetaattilasilevystä (α-GPAC). Kuvio 7 on selostettu esimerkin 8 yhteydessä.

Kuvio 8 esittää graafisesti MB9:n vapautumista trehaloosiokta-asetaatista (TOAC) tehdyistä lasilevyistä (6 mm x 2,5 mm) PBS-liuokseen. Kuvio 8 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 9 esittää graafisesti MBC:n vapauttamista TOAC/RUDA (trehaloosiokta-asetaatti/raffinoosiundeka-asetaatti) matriiseista deionoituun veteen. Erilaiset pitoisuudet ovat seuraavat: 95 % TOAC:ia, 0,61 painoprosenttia väriainetta ( ); 75 % TOAC:ia, 1,17 painoprosenttia väriainetta (○), 50 % TOAC:ia, 2,09 painoprosenttia väriainetta (◊); vain TOAC:ia, 1,39 painoprosenttia väriainetta (○); ja vain RUDA:a, 4 painoprosenttia väriainetta (Δ). Kuvio 9 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 10 esittää graafisesti Tg:n muutosta riippuen kahden HDC:n sovellusmuotojen sisältämän TOAC:in mooliprosentista. Neliöt edustavat trehaloosiokta-asetaatti/sorbitoliheksa-asetaattilasia (TOAC/SHAC). Ympyrät edustavat TOAC/RUDA lasia. Kolmiot edustavat trehaloosiokta-asetaatti/α-glukoosipenta-asetaattilasia (TOAC/α-GPAC). Kuvio 10 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 11 esittää graafisesti MB9:n keskimääräistä vapautusprosenttia PBS:ksi valituista TOAC/TUDA lasipalloista (n=4). Neliöt edustavat 10% RUDA:a. Ympyrät edustavat 50 % RUDA:a. Kolmiot edustavat pelkästään RUDA:a. Kuvio 11 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 12 esittää graafisesti MP9:n (yksi painoprosentti) vapautumista TOAC + 25 % SOAC (*) ja 25% COAC (*) (n=5) yhtenä koostumuksena. Kuvio 12 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 13 esittää graafisesti MB9:n (yksi painoprosentti) vapautumista TOAC-α-GPAC:ista seuraavina suhteina: 90:10 (*), 75:25 (*), 50:50 (⌂) ja 25:75 (Δ) (n=4). Kuvio 13 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 14 esittää graafisesti MB9:n vapauttamista TOAC:ista (*) ja TOAC/TOPR:ista (25 painoprosenttia) (*) (n=5). Kuvio 14 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 15 esittää graafisesti MB9:n (yksi painoprosentti) vapauttamista pelkästään TOAC:ista (*) ja TOAC:ista plus XPDO:sta (5 %) (*) (n=5). Kuvio 15 on selostettu esimerkin 9 yhteydessä.

Kuvio 16 esittää mikrovalokuvaa erään yhteiskoostumuksen mukaisen lasin ohuesta kalvosta, joka sisältää 10 % trehaloosia TOAC:issa, joka on kuivattu dimetyyliformamidistä (DMF). Kuvio 16 on selostettu esimerkin 10 yhteydessä.

Kuvio 17 esittää mikrovalokuvaa kuvion 16 mukaisesta yhteiskoostumuksesta suurennettuna. Kuvio 17 on selostettu esimerkin 10 yhteydessä.

Kuvio 18 esittää mikrovalokuvaa eräästä lasiyhteiskoostumuksesta, joka sisältää 10 % trehaloosia TOAC:issa yhdessä metyylivihreän ja punaöljyn O kanssa, joka on kuivattu DMF:stä. Kuvio 18 on selostettu esimerkin 10 yhteydessä.

Keksinnön yksityiskohtainen selostus

Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön kiinteät annostusjärjestelmät, jotka käsittävät kiinteät annostusvälineet ja vieraat aineet. Nämä annostusjärjestelmät on suunniteltu

tarjoamaan sisältämilleen vieraille aineille tarkat annostusnopeudet. Nämä annostusjärjestelmät ovat erityisen sopivia bioaktiivisten molekyylien annostelua varten eläimille ja ihmisille.

Keksintö tarjoaa käyttöön myös terapeuttisten aineiden annostusmenetelmät mukaanlukien rajoittamattomassa mielessä limakalvojen tai suun kautta, iholle, ihonalaiset, ihonsisäiset, lihaksen tai laskimon sisäiset ja sisäänhengityksen avulla annettavat annostukset.

Keksintö tarjoaa käyttöön lisäksi tällaisten annostusjärjestelmien valmistusmenetelmät.

Tässä yhteydessä käytetty ilmaisu "kiinteä annostus" merkitsee sitä, että välineeseen sisältyvä vieras aine on kiinteässä muodossa nestemäisen muodon sijasta, jolloin tätä kiinteää muotoa käytetään annostusta varten. Vieraita aineita ovat molekyylit, synteettiset ja luontaiset makromolekyylit ja makromolekyyliset yhdistelmät, solufraktiot, elävät ja kuolleet solut, bakteerit ja virukset ja muut kyseiseen välineeseen liittyvät aktiiviset aineet. Useat vieraat aineet ovat sopivia käytettäviksi tässä yhteydessä ja niitä selostetaan seuraavassa. Vieraan aineen "tehokkaalla määrällä" tarkoitetaan määrää, joka vaaditaan halutun vaikutuksen aikaansaamiseksi. Esimerkiksi bioaktiivisen aineen yhteydessä tehokas määrä on sellainen, joka saa aikaan halutun fysiologisen reaktion. Väline on kiinteässä muodossa ja luonteeltaan amorfinen tai lasimainen. Muita lisäaineita, puskuri- ja väriaineita jne. voidaan sisällyttää annostelujärjestelmiin. Tässä yhteydessä käytetty käsite "väline" tarkoittaa kaikkia vaaditun keksinnön sisältämiä lasia muodostavia aineita. Käsite "annostusjärjestelmä tai -järjestelmät" sisältää välineet ja vieraat aineet käsittävät kiinteät annosmuodot. Määrätyistä välineistä muodostetuille annostusjärjestelmille on annettu erilaisia nimiä ja jos ei muutoin ilmoiteta, käsite "annostusjärjestelmä" sisältää kaikki nämä nimet.

Keksinnön eräässä sovellusmuodossa kiinteät annostusjärjestelmät tarjoavat käyttöön vieraiden aineiden suuret vapautumisnopeudet. Tässä sovellusmuodossa välineenä on SP. Nyt on havaittu, että SP:eitä voidaan käsitellä jauheiden saamiseksi, joissa joko mikropallojen tai neulojen muodossa olevien hiukkasten koko on tasaisesti jakaantunut. SP:eitä voidaan myös käsitellä makroskooppisen annostusmuotojen aikaansaamiseksi, jotka sopivat istutettavia laitesovelluksia varten. Tässä yhteydessä selostetaan useita annostusmuotoja ja menetelmiä niiden valmistamiseksi. Näiden SP:iden on havaittu

olevan erityisen käyttökelpoisia tapauksissa, jolloin muutoin denaturoivat olosuhteet tekisivät mahdottomaksi bioaktiviisten materiaalien kiinteiden annosmuotojen muodostamisen. Tällaiset olosuhteet sisältävät erityisesti korkeat lämpötilat (joiden yläpuolelle bioaktiivinen materiaali muutoin denaturoituu) ja orgaanisten liuottimien läsnäolon.

Eräässä toisessa sovellusmuodossa kiinteät annostusjärjestelmät tarjoavat käyttöön vieraiden aineiden uudenlaiset ja määrätyt hallittavat vapautusnopeudet. Tässä sovelluksessa välineenä on orgaaninen karboksylaattilasi. Nyt on havaittu, että orgaaniset karboksylaatit muodostavat stabiileja amorfisia välineitä liuottimen haihtumisen avulla. Nämä orgaaniset lasit vapauttavat niihin sisällytettyjä vieraita aineita tarkalleen määritettyinä nopeuksina, jotka riippuvat kyseisen ainekoostumuksen karboksylaattianionista ja käytössä olevasta metallikationista. SP:eitä sisältävien välineiden tavoin näitä laseja voidaan käsitellä joko yksinään tai seoksina toisten orgaanisten karboksylaattien ja/tai SP:eiden ja/tai HDC:eiden kanssa jauheiden valmistamiseksi, joiden sisältämillä mikropallojen, neulojen ja/tai istutettavien välineiden muodossa olevilla hiukkasilla on yhtenäinen kokojakautuma useiden erilaisten makroskooppisten annostusmuotojen aikaansaamiseksi.

Keksinnön eräänä lisäsovellusmuotona ovat kiinteät annostusjärjestelmät, joilla on vieraiden aineiden uudet määrätyt ja hallittavat vapautusnopeudet. Tässä sovelluksessa välineenä on vettä hylkivä hiilihydraattijohdannainen. Nyt on havaittu, että HDC:t muodostavat pysyviä lasimaisia välineitä, jotka vapauttavat vieraat aineet vesipitoisissa olosuhteissa tarkalleen määritetyillä nopeuksilla hiilihydraatista, sen johdannaisten tekemiseen käytetystä vettä hylkivästä osuudesta tai osuuksista ja johdannaistekemisasteesta riippuen. Samoin kuin SP:eitä käsittäviä välineitä, myös HDC:eitä käsittäviä välineitä voidaan käsitellä jauheiden saamiseksi, joissa esiintyy hiukkaskokojen homogeeninen jakautuminen joko mikropallojen ja neulojen muodossa. HDC:eitä voidaan myös käsitellä useiden erilaisten makroskooppisten annostusmuotojen muodostamiseksi.

Näiden annosmuotojen tekemistä varten käytettyjä annosmuotoja ja menetelmiä selostetaan tässä yhteydessä. Näiden annostusjärjestelmien on havaittu olevan erityisen käyttökelpoisia tapauksissa, joissa vieraan aineen luonne tekisi mahdottomaksi kiinteiden annostusmuotojen aikaansaamisen, koska tulokseksi saataisiin

annostusjärjestelmät vettä hylkiviä vieraita aineita varten, joita on joko vaikea muodostaa annostusmuotoihin tai saada aikaan niiden tehokkaita fysiologisia pitoisuuksia niiden liukenemattomuuden johdosta vesipitoisiin liuottimiin.

Annostusjärjestelmät ovat olemassa vieraiden aineiden kiinteinä liuoksina, emulsioina, suspensioina tai koaservaatteina kiinteässä välineessä. Vieras aine kestää korkeampia lämpötiloja välineen sisällä kuin yksinään. Tarkka lämpötilakestävyys riippuu käytössä olevasta välineestä. Siten annostusjärjestelmien komponentit voidaan pitää sulassa tilassa lyhyen ajan vahingoittamatta vieraita aineita käsittelyn aikana. Samalla tavoin annostelujärjestelmiä voidaan käsitellä edelleen ja ne kestävät nitraatin ja/tai karboksylaatin ja/tai HDC:n ja/tai lasinmuodostusaineiden aiheuttaman sintrautumisen yhteydessä tapahtuvan vahingoittumisen.

Keksintö tarjoaa käyttöön myös erilaisten annosteluvälineiden ja -järjestelmien yhteissovellusmuodot, jotka tarjoavat käyttöön suuren määrän annostusvälineyhdistelmiä.

Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön ainekoostumukset ja niiden valmistusmenetelmät. Vaikka yksittäisiä muotoja voidaan käyttää, käytössä voi olla enemmän kuin yksi väline, vieras aine ja lisäaine. Näiden aineiden riittävänä määrän arviointi riippuu alaan perehtyneen henkilön taidoista.

Polyoliannostusjärjestelmien stabilointi

Keksintö tarjoaa käyttöön kiinteät annostusjärjestelmät, joiden yhteydessä annostusväline käsittää stabiloivan polyolin. Näitä järjestelmiä kutsutaan "SP-annostusjärjestelmiksi". Nyt on havaittu, että näitä SP-annostusjärjestelmiä voidaan käsitellä useisiksi erilaisiksi kiinteiksi annostelumuodoiksi, jotka ovat erityisen sopivia vieraiden aineiden terapeuttista annostusta varten.

SP:t käsittävät rajoittamattomassa mielessä hiilihydraatit. Tässä yhteydessä käytetty käsite "hiilihydraatit" sisältää rajoittamattomassa mielessä monosakkaridit, disakkaridit, trisakkaridit, oligosakkaridit ja niiden vastaavat sokerialkoholit, polysakkaridit ja kemiallisesti muunnetut hiilihydraatit, kuten hydroksietyylitärkkelyksen ja sokeripolymeerit (Ficoll). Sekä luontaiset että synteettiset hiilihydraatit ovat sopivia

käytettäviksi tässä yhteydessä. Synteettiset hiilihydraatit sisältävät rajoittamattomassa mielessä hiilihydraatit, joissa glykosidinen sidos on korvattu tioli- tai hiilisidoksella. Hiilihydraattien sekä D- että L-muotoja voidaan käyttää. Hiilihydraatit voivat olla ei-pelkistäviä tai pelkistäviä. Sopivien välineiden yhteydessä vieras aine voidaan kuivata ja varastoida ilman että denaturoinnin, aggregoinnin tai muiden mekanismien johdosta esiintyy merkittävää tehon häviöitä. Tehonhäviöiden estämistä voidaan tehostaa käyttämällä erilaisia lisäaineita, kuten Maillardin reaktion inhibiittoreita seuraavassa selostetulla tavalla. Tällaisten inhibiittoreiden lisääminen on erityisen suositeltavaa pelkistävien hiilihydraattien yhteydessä.

Alalla tunnetaan pelkistäviä hiilihydraatteja, jotka soveltuvat käytettäväksi esillä olevan keksinnön yhteydessä ja sisältäessä rajoittamattomassa mielessä glukoosin, maltoosin, laktoosin, fruktoosin, galaktoosin, mannoosin, maltuloosin, iso-maltuloosin ja laktuloosin.

Ei-pelkistävät hiilihydraatit sisältävät rajoittamattomassa mielessä trehaloosin, raffinoosin, stakyoosin, sukroosin ja dekstraanin. Muut käyttökelpoiset hiilihydraatit käsittävät sokerialkoholien ja muiden suoraketjuisten polyalkoholien joukosta valitut polyhydroksiyhdisteiden ei-pelkistävät glykosidit. Sokerialkoholiglykosidit ovat sopivimmin monoglykosideja, erityisesti yhdisteet, jotka on saatu pelkistämällä disakkarideja, kuten laktoosia, maltoosia, laktuloosia ja maltuloosia. Glukosidinen ryhmä käsittää edullisesti glukosidin tai galaktosidin ja sokerialkoholina on sopivimmin sorbitoli (glusitoli). Erityisen sopivia hiilihydraatteja ovat maltitoli (4-O-β-D-glukopyranosyyli-D-glusitoli), laktitoli (4-O-β-D-galaktopyranosyyli-D-glusitoli), palatiniitti (GPS:n, α-D-glucopyranosyyli-1->6-sorbitolin ja GPM:n, α-D-glukopyranosyyli-1->6-mannitolin seos) ja sen yksittäiset sokerialkoholit, komponentit GPS ja GPM.

SP käsittää sopivimmin hiilihydraatin, joka esiintyy hydraatin muodossa, mukaanlukien trehaloosi, laktitoli ja palatiniitti. SP käsittää sopivimmin trehaloosin. Nyt on hämmästyttävää kyllä havaittu, että kiinteissä annostusjärjestelmistä, jotka sisältävät tiettyjä sokerihydraatteja, kuten trehaloosia, puuttuu muita hiilihydraatteja sisältävien kiinteiden annosmuotojen "tarttuvuus" tai "tahmeus". Siten trehaloosi on suositeltava SP valmistusta, pakkaamista ja annostelua varten.

Trehaloosi (α-D-glukopyranosyyli-α-D-glukopyranosidi) esiintyy luonnollisena ei-pelkistävänä disakkaridina, jonka havaittiin alunperin liittyvän kuivumisvaurioiden estämiseen tietyissä kasveissa ja eläimissä, joita siten voidaan kuivattaa ilman vaurioita ja elvyttää uudelleen tapahtuvan hydrataation jälkeen. Trehaloosin on osoitettu olevan käyttökelpoinen proteiinien, virusten ja elintarvikkeiden denaturoinnin estämisessä kuivatuksen aikana. Katso US-patenttijulkaisut nrot 4 891; 5 149 653; 5 026 566; Blakeleys et al (1990) Lancer 336:854-855; Roser (heinäkuu 1991) Trends in Food Sci and Tech. 166-169; Colaco et al (1992) Biotechnol. Internat., 345-350; Roser (1991) BioPharm. 4:47-53; Colaco et al (1992) Bio/Tech 10:1007-1011; ja Roser et al (toukokuu 1991) New Scientist. ss. 25-28.

Muutamia tässä yhteydessä käyttökelpoisia SP:eitä on selostettu esimerkiksi julkaisuissa WO 91/18091, 87/00196 ja US-patenttijulkaisuissa nrot 4 891 319 ja 5 098 893, joissa selostetaan polyolien käyttöä laseina molekyylien stabiloimiseksi kuivatuksen ja varastoinnin aikana uutta kokoonpanoa varten ennen käyttöä. Keksinnön mukaisten kiinteiden annostusmuotojen on nyt havaittu olevan sopivia suoraa käyttöä varten, esimerkiksi annostusjärjestelminä sisällytettyjen vieraiden aineiden hallittua vapauttamista varten. Näitä polyoleja voidaan lisäksi käyttää yhdessä muiden amorfisten matriisien kanssa annostusjärjestelmien muodostamiseksi, joilla on nyt havaittu olevan suuren määrän erilaisia vapautusnopeuksia ja ominaisuuksia, joita voidaan helposti ja tarkasti hallita ainutlaatuisten kiinteiden annostusjärjestelmien muodostamiseksi.

Nyt on myöskin havaittu, että sopivimmin orgaanisiin liuottimiin liukenevat vieraat aineet voidaan kuivattaa trehaloosissa orgaanisesta/vesipitoisesta liuotinseoksesta yhteissovellusmuodon aikaansaamiseksi, joka voidaan helposti muodostaa uudelleen vesipitoisissa liuottimissa. Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön tällä tavoin muodostetut kiinteät annostusjärjestelmät. Keksintö tarjoaa käyttöön menetelmät tällä tavoin saatujen kuivatettujen materiaalien ja koostumusten valmistamiseksi. Vieras aine liuotetaan orgaaniseen/vesipitoiseen liuottimeen yhdessä tehokkaan trehaloosimäärän kanssa ja sen jälkeen kuivatetaan. Tällöin tulokseksi saadaan vieraan aineen kiinteä liuos, emulsio, suspensio tai koaservaatti trehaloosilasissa, joka sitten liukenee helposti vesipitoiseen liuokseen antaen tulokseksi liukenemattoman vieraan aineen hienosti jakautuneen suspension. Nyt on osoitettu, että immuunisuppresantti CSA (joka liukenee huonosti veteen ja joka annostellaan normaalisti öljyemulsiona) trehaloosi-li-

uoksessa, joka sisältää 1:1 etanolia:vesiseosta, voidaan kuivattaa kirkkaaksi trehaloosilasiksi, joka sisältää CSA:ta. Tämä lasi voidaan jauhaa, jolloin saadaan vapaasti juoksevaa jauhetta, joka voidaan myös muodostaa pillerin muotoon ja joka lisättynä veteen liukenee välittömästi antaen tulokseksi CSA:n hienosti dispergoituneen suspension vedessä.

HDC-annostusjärjestelmät

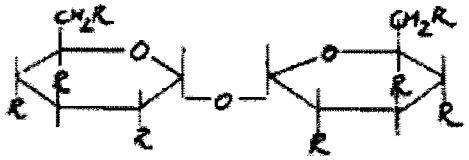
Keksintö tarjoaa käyttöön kiinteät annostusjärjestelmät, joissa väline käsittää ainakin yhden HDC:n. Näitä järjestelmiä kutsutaan "HDC-annostusjärjestelmiksi". HDC:t muodostavat erillisen ryhmän myrkyttömiä hiilihydraattijohdannaisia, joita voidaan käyttää muodostamaan kiinteä annostusväline. Vaikka useita HDC:eitä on syntetisoitu, niiden helpon lasimuodostuksen antamia etuja ei ole aikaisemmin selostettu. Keksinnön sovellusmuotona on siten näiden HDC:eiden lasimainen muoto, jota myös kutsutaan amorfiseksi matriisin muodostavaksi koostumukseksi. HDC-annostusjärjestelmät ovat erityisen sopivia käytettäviksi vieraiden aineiden hallitun, jaksottaisen tai viivästetyn vapautuksen yhteydessä. Mikä tahansa tässä yhteydessä selostettu vieras aine voidaan sisällyttää HDC-annostelujärjestelmiin.

Kuten tässä yhteydessä on selostettu, HDC:t muodostavat helposti laseja joko jäähdytetystä sulamassasta tai haihdutetusta orgaanisesta liuoksesta. HDC:eitä voidaan myös käsitellä SP:eitä varten selostettujen menetelmien avulla.

Tässä yhteydessä käytetty käsite "HDC" tarkoittaa useita vettä hylkiväksi tehtyjä hiilihydraattijohdannaisia, joissa ainakin yksi hydroksyyliryhmä on korvattu vettä hylkivällä osuudella, sisältäen rajoittamattomassa mielessä esterit ja eetterit. Useita esimerkkejä sopivista HDC:eistä ja niiden synteeseistä on selostettu julkaisussa Food Carbohydrate - 2, toimitettu C.K. Lee, Applied Science Publishers, Lontoo (1980). Muita synteesejä ovat selostaneet esimerkiksi Akoh et al (1987) J. Food Sci 52:1570; Khan et al (1993) Tetra Letts 34:7767; Khan (1084) Pure & Appl. Chem. 56:833-844; ja Khan et al (1990) Carb. Res. 198:275-283. Erityiset esimerkit HDC:stä sisältävät rajoittamattomassa mielessä sorbitoliheksa-asetaatin (SHAC), α-glukoosipenta-asetaatin (α-GPAC), β-glukoosipenta-asetaatin (β-GPAC), 1-O-oktyyli-β-D-glukoositetra-asetaatin (OGTA), trehaloosiokta-asetaatin (TOAC), trehaloosioktapropanoaatin (TOPR), sukroosiokta-asetaatin (SOAC), sellobioosiokta-asetaatin (COAC), raf-

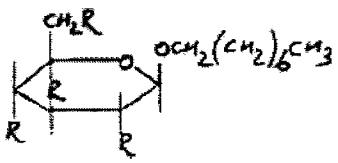
finoosiundeka-asetaatin (RUDA), sukroosioktapropanoaatin, sellobioosioktapropanoaatin, raffinoosiundeka-propanoaatin, tetra-O-metyyli-trehaloosin ja di-O-metyyli-heksa-O-asetyylisukroosin. Esimerkkinä sopivasta HDC:stä, jossa hiilihydraattina on trehaloosi, voidaan mainita seuraava:

kaava 1



Kaavassa 1 R edustaa hydroksyyliryhmää tai sen vähemmän hydrofiilistä johdannaista, kuten esteriä tai eetteriä tai mitä tahansa sen funktionaalista muunnosta, jossa ainakin yksi R ei tarkoita hydroksyyliä vaan hydrofobista johdannaista. Sopivat funktionaaliset muunnokset sisältävät rajoittamattomassa mielessä sovellukset, joissa happiatomi on korvattu heteroatomilla, kuten N:llä tai S:llä. Korvausaste voi myös vaihdella, ja se voi sisältää erillisten johdannaisten seoksen. Hydroksyyliryhmien täydellistä korvaamista ei tarvitse tapahtua ja mahdollinen on myös vaihtoehto, jonka yhteydessä välineen fysikaalisia ominaisuuksia (kuten liukenevuutta) muutetaan. R:llä voi olla mikä tahansa ketjupituus arvosta C_2 lähtien ja se voi olla suora, haaroittunut, syklinen tai muunnettu. Kaavan 1 esittäessä disakkariditrehaloosia mikä tahansa tässä yhteydessä selostettu hiilihydraatti voi käsittää hiilihydraattirungon, ja glykosidisen sidoksen asema ja sakkaridiketjun pituus voivat vaihdella. Käytännön ratkaisuna synteesin vaatimien kustannusten ja tehokkuuden suhteen on tyypillisesti pentasakkaridi, mutta keksintö ei ole kuitenkaan rajoittunut mihinkään erityiseen sakkaridityyppiin, glykosidiseen sidokseen tai ketjupituuteen. Useat muut HDC:eiden ominaisuudet eivät ole rajoittavia. Jokaisen HDC:n muodostamaa sakkaridikomponenttia voidaan myös vaihdella, sakkaridien välisen glykosidisen sidoksen aseman ja luonteen ollessa myös muutettavissa, jolloin korvaustyyppiä voidaan myös muuttaa yhdessä HDC:n kanssa. Edustava esimerkki HDC:stä, joka sisältää sekoitetun korvauksen estereillä ja eettereillä, on 1-o-oktyyli-β-D-glukopyranosidi 2,3,4,5-tetra-asetaatti, jonka kaava on seuraava:

kaava 2



Jossa R merkitsee samaa kuin O_2CCH_3.

Kyky HDC:ien ominaisuuksien muuttamiseksi koostumuksessa tapahtuvien vähäisten muutosten avulla tekee niistä ainutlaatuisen sopivia käytettäviksi kiinteiden annostusvälineiden yhteydessä, verrattuna erityisesti polymeerisiin järjestelmiin, joiden toiminta riippuu usein kiteisyysalueista niiden ominaisuuksien muuttamiseksi, erityisesti bioeroosiosta. HDC-annostelujärjestelmiä voidaan tehdä "räätälintyönä" tarkkojen ominaisuuksien, kuten vieraiden aineiden vapautusnopeuksien saavuttamiseksi. Tällaisia sovelluksia voidaan saavuttaa muuttamalla kyseisen karbohydraatin muunnelmia tai yhdistämällä toisiinsa useita erilaisia HDC:eitä.

Puhtaiden yksinkertaisten HDC-lasien on havaittu olevan pysyviä ympäristölämpötiloissa ja ainakin 60 % kosteuteen asti. Tietyt vieraita aineita sisältävät HDC-lasiseokset ovat kuitenkin hämmästyttävän pysyviä ympäristölämpötiloissa ja vähintään 95 % kosteuteen asti. On erityisen hämmästyttävää, että ottamalla mukaan jopa 10 painoprosenttia erittäin hygroskooppisia vieraita aineita, kuten synteettistä kortikosteroidia 6α,9α-difluori-11β,21-dihydroksi-16α,17α-propyylimetyleenidioksi-4-pregneeni-3,20-dionia (XPDO), saadaan aikaan HDC-lasit, jotka ovat pysyviä silloinkin, kun ne ovat jopa 95 % suhteellisten kosteuksien alaisia huonelämpötilassa yli kuukauden ajan, niiden kuitenkin välittömästi vapauttaessa vieraat aineet 5-10 minuutin sisällä nestemäisessä muodossa olevaan veteen lisättyinä. Samanlainen vaikutus HDC-lasin pysyvyyteen havaittiin TOAC-laseissa, jotka sisälsivät vieraana aineena 10 painoprosenttia CSA:ta.

Olemme myös havainneet, että muiden HDC:eiden lisääminen näillä samoilla tasoilla sai myös aikaan sekoitettuja HDC-laseja, jotka olivat yhtä kestäviä devitrifikaation suhteen 95 % suhteellisessa kosteudessa. Siten joko GPAC:ia tai TOPR:ia 10 painoprosenttia sisältävät TOAC-lasit omasivat täydellisen kestävyyden devitrifikaatiolle 95 % suhteellisessa kosteudessa. On mielenkiintoista, että yhdistetyt HDC-lasit käyttäytyivät eri tavalla nestemäisessä vedessä; GPAC/TOAC-lasin kiteytyessä pinnaltaan paljon nopeammin kuin TOPR/TOAC-lasi, katso kuviot 13,14. Tämä kyky muodostaa sopivalla tavalla yhdistettyjen HDC-lasien hajaantumisnopeudet, tekee niistä erityisen käyttökelpoisia annostusvälineiden hallittua vapauttamista varten.

HDC-lasit voidaan muodostaa joko haihduttamalla liuotin tai jäähdyttämällä HDC-sulamassa. Määrättyjen HDC-lasien alhaisten pehmennyspisteiden johdosta termisesti labiileja vieraita aineita, kuten lääkeaineita ja biologisia molekyylejä, voidaan sisällyttää HDC-sulamassaan annostusjärjestelmän käsittelyn aikana ilman hajoamista. Hämmästyttävää kyllä on ilmennyt, että nämä vieraat aineet osoittavat nollan kertaluvun vapautumiskinetiikan, kun amorfiset matriisinmuodostuskoostumukset kuluvat vesipitoisessa liuoksessa. Vapautumista seuraa pinnalla tapahtuvaa devitrifikaatioprosessia. HDC-annostusjärjestelmät voidaan helposti valmistaa mihin tahansa muotoon, joka voi olla tässä yhteydessä selostettujen kaltainen. Tällainen muotoilu voi tapahtua suulakepuristuksen, valamisen jne. avulla käyttäen mitä tahansa alalla tunnettua menetelmää. HDC-annostusvälineet ovat myrkyttömiä ja inerttejä mille tahansa niiden mahdollisesti sisältämälle liuokselle.

Nämä HDC-annostusjärjestelmät joutuvat, ollessaan muodostettuina matriiseiksi ja/tai päällysteiksi, heterogeenisen pintaeroosion alaisiksi ollessaan asetettuina vesipitoiseen ympäristöön. Sitoutumatta mihinkään teoriaan on havaittu, että eräs mahdollinen mekanismi, joka johtaa niiden hajoamiseen, alkaa alunperin pinnan devitrifikaatiosta, koska supersaturaatiota tapahtuu rajapinnassa, minkä jälkeen pintakerrokset joutuvat hitaammalla nopeudella tapahtuvan eroosion ja/tai hajaantumisen alaisiksi. Matriiseja voidaan muuttaa komponenttien huolellisen valinnan avulla vieraan aineen haluttujen devitrifikaationopeuksien ja siten myös vaadittujen vapautumisnopeuksien saavuttamiseksi, koska kiteytynyt matriisi ei muodosta estettä vieraan aineen vapauttamiselle.

HDC-sulamassat ovat erinomaisia liuottimia useille orgaanisille molekyyleille. Tämä tekee niistä erityisen sopivia käyttöä varten bioaktiivisten materiaalien annostelussa, jota on muutoin vaikea toteuttaa. Yli 20 painoprosenttia orgaanisista molekyyleistä voidaan sisällyttää HDC-annostelujärjestelmiin. On otettava huomioon, että HDC:t ovat inerttejä ja että niissä ei esiinny mitään reaktiivisuutta niiden liuottimien tai niihin sisältyvien vieraiden aineiden suhteen. Kuten seuraavassa yksityiskohtaisemmin selostetaan, HDC:t ovat sopivia käytettäviksi dispersion muodostamista varten SP-annostusjärjestelmän sisältämästä hienosta suspensiosta monimutkaisten yhdistettyjen annostusjärjestelmien aikaansaamiseksi.

Komponenttina toimivat HDC:t syntetisoidaan korkeaan puhtauteen käyttäen tunnettuja kemiallisia tai entsymaattisia synteettisiä periaatteita. HDC:t ja vieraat aineet

voidaan sekoittaa läheisesti toisiinsa sopivina moolisuhteina ja sulattaa yhteen, kunnes saavutetaan kirkas tulos. Sopivat sulatusolosuhteet sisältävät rajoittamattomassa mielessä sulatuksen avoimissa lasipulloissa lämpötilassa 100-150 °C 1-2 minuutin ajan. Tämä johtaa juoksevaan sulamassaan, jonka voidaan sallia hieman jäähtyä etukäteen, vieraan aineen liuottamina sulamassaan vaadittaessa, ja lasin jäähdyttämiseen kaatamalla se esimerkiksi messinkilevyn päälle tai metallimuottiin, joka on tarkoitettu muotoiltuja annostusvälineitä varten. Kummassakin tapauksessa sulalämpötilaa voidaan huolellisesti säätää ja vieraita aineita voidaan sisällyttää joko esisulatettuun HDC-koostumukseen tai hämmentää jäähtyvään HDC-sulamassaan ennen jäähdytystä.

HDC-sulamassat ovat termisesti pysyviä ja ne mahdollistavat orgaanisten molekyylien käytön ilman ydinpartikkelien denaturaatiota tai suspensiota ja fysikaalisen luonteen muuttamista. Lasisulamassoja voidaan myös käyttää päällystämään mikronin suuruusluokkaa olevia hiukkasia, tämän ollessa erityisen tärkeää aktiivisia hygroskooppisia aineita sisältäviä ei-hygroskooppisia jauheita muodostettaessa terapeuttisten aineiden sisäänhengityksen avulla tapahtuvaa annostusta varten.

Lasimaisia HDC-annostusvälineitä voidaan vaihtoehtoisesti muodostaa haihduttamalla HDC ja liuokseen liitettävä vieras aine liuottimeen tai liuotinseokseen. Komponentteina toimivat HDC:t voidaan helposti liuottaa useisiin orgaanisiin liuoksiin. Sopivat liuottimet käsittävät rajoittamattomassa mielessä dikloorimetaanin, kloroformin, dimetyylisulfoksidin (DMSO), dimetyyliformamidin (DMF) ja korkeammat alkoholit. Liuottimen luonne ei ole olennaisen tärkeä, koska se poistetaan täysin annostusjärjestelmää muodostettaessa. Sopivimmin sekä HDC-komponentti että vieras aine ovat liukenevia liuottimeen. Liuotin voi kuitenkin hajoittaa HDC:n ja sallia vieraan aineen suspension. Liuotinta väkevöitäessä, kiteytymistä ei tapahdu käyttökelpoisempien HDC:eiden yhteydessä. Sen sijaan saadaan tulokseksi amorfinen kiinteä aine, jolla on samanlaiset ominaisuudet kuin jäähdytetyllä lasilla. Vieraat aineet voidaan tässäkin tapauksessa sisällyttää joko liuoksesta tai hiukkassuspensiona.

HDC-lasitransitiolämpötilat (Tg) ovat alhaisia, yleensä alle 70 °C, ja hämmästyttävää kyllä niitä ei voida ennustaa sulalämpötilojen perusteella. Yleensä ottaen kiteytymistaipumus jäähdytetystä sulamassasta tai liuottimen pelkistämisen avulla on sangen vähäinen. Sekä kiteytymistä (devitrifikaatiota) että sulamassan juoksevuutta lähellä Tg-arvoa olevissa lämpötiloissa voidaan säätää modifikaattoreiden, kuten muiden

sokerijohdannaisten ja tiettyjen aktiivisten orgaanisten aineiden avulla. Oheisissa taulukoissa, joita selostetaan seuraavien esimerkkien yhteydessä, ilmoitetaan Tg- ja sulamislämpötilatiedot useille HDC:eille, joita voidaan käyttää joko yksinään tai seoslasissa tässä yhteydessä.

Taulukko 1

Materiaali/lasi	Sp/°C	Tg/°C	Mp
SHAC	100-104	-6	434,4
α-GPAC	109-111	14	390,3
ß-GPAC	130-131	17	390,3
OGTA	50-52	-10	460,5
TOAC	101-103	50	678,6
TOPR	47-48	3	790,6
SOAC	87-89	25	678,6
COAC	224-226	65	678,6
RUDA	87-88	55	966,9

Taulukko 2

Lasijärjestelmä	Moolisuhteet HDC:t lasissa	Tg/°C
TOAC	100	50
RUDA	100	55
α-GPAC:TOAC	10:90	47
	25:75	44
	50:50	32
	75:25	22
SOAC:TOAC	25:75	41
COAC:TOAC	25:75	55
TOPR:TOAC	22:78	37
RUDA:TOAC	10:90	52
	25:75	53
	50:50	52
	75:25	54

Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön myös annostusvälineet, jotka käsittävät erilaisten HDC:eiden yhdistelmät, joiden on nyt havaittu tarjoavan käyttöön uudenlaisia annostusvälineitä, jotka sisältävät tarkasti hallittavan Tg-lämpötilan ja muita fysikaaliskemiallisia ominaisuuksia, kuten viskositeetin ja kestävyyden vesipitoisissa oloissa hajoamista vastaan.

Yhdistetyt annostusjärjestelmät

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat myös kiinteät annostusjärjestelmät, jotka käsittävät HDC:t ja SP:t ja/tai muut lasinmuodostusaineet eri yhteiskoostumuksina ja yhdistelminä. Näitä järjestelmiä kutsutaan "yhdistetyiksi annostusjärjestelmiksi".

Ainakin kaksi yhdistettyä annostusjärjestelmää on muodostettu yhdessä käyttämällä HDC- ja SP-välineitä annostusjärjestelmien muodostamiseen. Eräässä tapauksessa SP-annostusjärjestelmän sisältämät mikropallot on suspendoitu HDC-annostusjärjestelmässä. Eräässä toisessa tapauksessa HDC-annostusjärjestelmän mikropallot on suspendoitu SP-annostusjärjestelmässä. Nämä yhdistetyt annostusjärjestelmät sallivat ainakin kahden, yhden hydrofobisen ja yhden hydrofiilisen, vieraan aineen vapauttamisen vähintään kahdella erilaisella vapautusnopeudella.

Muita yhdistettyjä annostusjärjestelmiä on muodostettu päällystämällä yksi annostusjärjestelmä toisella. Esimerkiksi SP-annostusjärjestelmä istutettavassa muodossa voitaisiin päällystää HDC-kerroksella tai HDC-annostusjärjestelmällä vieraan aineen viivästyneen vapauttamisen SP-annostelusysteemissä tai erilaisten vieraiden aineiden peräkkäisen vapauttamisen aikaansaamiseksi. Useita tällaisia sovelluksia voidaan helposti toteuttaa. Päällysteiden lukumäärä on teoreettisesti rajoittamaton ja alaan perehtynyt henkilö voi sen määrittää.

Yhdistettyjä annostusjärjestelmiä voidaan myös muodostaa suulakepuristamalla ontto lieriömäinen väline, joka sisältää (SP:n, HDC:n tai niiden yhdistelmän käsittävästä) annostusvälineestä tai -järjestelmästä tulevan onton keskiontelon, ja täyttämällä tämä keskiontelo toisella annostusjärjestelmällä. Nämä koostumukset sopivat erityisen hyvin ruiskutettavien tai istutettavien laitteiden muodostamiseen.

Annostusjärjestelmien muut komponentit

Muut lasit

Kuten seuraavassa selostetaan, annostusjärjestelmät voivat sisältää lisäksi yhden fysiologisesti hyväksyttävän lasin. Sopivat lasit sisältävät rajoittamattomassa mielessä karboksylaatin, fosfaatin, nitraatin, sulfaatin, bisulfaatin, HDC:t ja niiden yhdistelmät. Karboksylaatteja on aikaisemmin käytetty tapauksissa, jolloin vaaditaan vesiliukoisia laseja, koska useat lasti liukenevat vain huonosti veteen. Tällaiset sopivat lasit sisältävät rajoittamattomassa mielessä esimerkiksi julkaisussa PCT/GB 90/00497 selostetut lasit. Näitä karboksylaattilaseja on kuitenkin valmistettu aikaisemmin vain sulamassan jäähdytyksen avulla. Karboksylaattien sulattamista varten tarvittava korkea lämpötila rajoittaa vakavasti karboksylaattien määrää, joita voidaan käyttää muodostamaan lasimaisia annostusvälineitä, erityisesti bioaktiivisten materiaalien yhteydessä, jotka pyrkivät olemaan labiileja lämmön vaikutukselle. Olemme nyt hämmästyttävää kyllä havainneet, että karboksylaattilaseja voidaan muodostaa helposti haihduttamalla liuotin, joka sisältää lasia muodostavaa metallista karboksylaattia ja mukaanliitettyä vierasta ainetta. Keksintö tarjoaa käyttöön siten menetelmät, jotka on tarkoitettu kiinteiden annostusvälineiden ja -järjestelmien valmistusta varten, joiden yhteydessä karboksylaattikomponentti liuotetaan sopivaan liuottimeen, joka haihdutetaan läpikuultavan lasin aikaansaamiseksi. Karboksylaattien ja muiden lasia muodostavien komponenttien seoksia voidaan käyttää keksinnön mukaisten uudenlaisten lasia muodostavien komponenttien valmistamiseksi.

Annostusjärjestelmät voidaan myös päällystää yhdellä tai useammalla fysiologisesti hyväksyttävästä lasista tehdyllä kerroksella, jolla on ennalta määrätty liukenemisnopeus. Tämä järjestely on erityisen tehokas vieraiden aineiden jaksottaisen vapautuksen yhteydessä. Koostumus voi lisäksi sisältää muita veteen liukenevia ja biologisesti hajoavia lasinmuodostusaineita. Sopivat lasinmuodostusaineet sisältävät rajoittamattomassa mielessä laktidin ja laktidi/glykolidikopolymeerit, glukuronidipolymeerit ja muut polyesterit, polyortoesterit ja polyanhydridit.

Vieraat aineet

Esimerkkeinä vierasainetyypeistä, joita voidaan käyttää keksinnön mukaisten välineiden ja menetelmien yhteydessä, voidaan mainita teolliset kemikaalit, kuten väriaineet ja hajusteet sekä lääketieteessä ja maataloudessa käytettävät bioaktiiviset materiaalit, joita voidaan käyttää sekä elävässä organismissa (in vivo) että koelasissa (in vitro). Sopivat bioaktiiviset materiaalit sisältävät rajoittamattomassa mielessä lääkeaineet, terapeuttiset ja ehkäisevät aineet sekä maataloudessa käytettävät aineet, kuten tuholaismyrkyt ja feromonit.

Sopivat lääkeaineet käsittävät rajoittamattomassa mielessä tulehdusta estävät lääkkeet, kipulääkkeet, niveltulehduslääkkeet, kouristuksia estävät lääkkeet, masennuslääkkeet, mielisairauslääkkeet, rauhoittavat lääkeaineet, ahdistukseen auttavat lääkkeet, huumeiden vieroituslääkkeet, Parkinsonin tautia parantavat lääkkeet, kolinergiset agonistit, kemoterapeuttiset lääkkeet, hylkimistä vastustavat aineet, antiviraaliset lääkeaineet, antibiootit, ruokahaluahillitsevät lääkeaineet, oksennuksen vastalääkkeet, peristaltiikkaa hillitsevät lääkeaineet, histamiinin vasta-aineet, migreenilääkkeet, sepel-, aivo- ja ääreisverisuonten laajentajat, hormonilääkeaineet, hedelmöitystä ehkäisevät aineet, hyytymistä estävät aineet, virtsaneritystä lisäävät aineet, verenpainetta alentavat aineet, sydänverisuonilääkkeet, opioidit ja vastaavat.

Sopivat terapeuttiset ja ehkäisevät aineet käsittävät rajoittamattomassa mielessä minkä tahansa terapeuttisesti tehokkaan biologisen modifikaattorin. Tällaiset muutosaineet käsittävät rajoittamattomassa mielessä solunalaiset koostumukset, solut, bakteerit, virukset ja molekyylit, sisältäen rajoittamattomassa mielessä lipidit, orgaaniset aineet, proteiinit ja peptidit (luontaiset ja synteettiset), peptidijäljittelyaineet, hormonit (peptidit, steroidit ja kortikosteroidit), D ja L aminohappopolymeerit, oligosakkaridit, polysakkaridit, nukleotidit, oligonukleotidit ja nukleiinihapot, mukaanlukien DNA ja RNA, proteiini-nukleiinihappohybridit, pienet molekyylit ja niiden fysiologisesti aktiiviset analogit. Modifikaattoreita voidaan lisäksi saada luonnollisista lähteistä tai valmistaa rekombinaatio- tai synteettisten tapojen avulla, ja ne voivat sisältää analogeja tai agonisteja ja homologeja.

Tässä yhteydessä käytetty ilmaisu "proteiini" tarkoittaa myös peptidejä ja polypeptidejä. Tällaiset proteiinit käsittävät rajoittamattomassa muodossa entsyymit, biolääkeaineet, kasvuhormonit ja -tekijät, insuliinin, monoklonaaliset vasta-aineet, interferonit, interleukiinit ja sytoksiinit.

Orgaaniset aineet sisältävät rajoittamattomassa mielessä lääketieteellisesti vaikuuttavat kemikaalit. Esimerkiksi edustavat orgaaniset aineet sisältävät rajoittamattomassa mielessä vitamiinit, hermosiirtoaineet, mikrobeja tuhoavat aineet, histamiinien estoaineet, kipuapoistavat aineet ja immuunisuppressiivit.

Sopivat steroidihormonit käsittävät rajoittamattomassa mielessä kortikosteroidit, estrogeenin, progesteronin, testosteronin ja niiden fysiologisesti aktiiviset analogit. Alalla tunnetaan useita steroidihormonianalogeja ja ne sisältävät rajoittamattomassa mielessä estradiolin, SH-135:n ja tamoxifeenin. Useat steroidihormonit, kuten progesteroni, testosteroni ja niiden analogit ovat erityisen sopivia käytettäviksi esillä olevan keksinnön yhteydessä, sillä ne eivät absorboidu ihon kautta ja, lukuunottamatta muutamia analogeja, ne tuhoutuvat suun kautta annettaessa ns. maksan "Firs-pass" -mekanismin johdosta.

Tässä yhteydessä käytetty ilmaisu "nukleiinihapot" tarkoittaa rajoittamattomassa mielessä mitä tahansa terapeuttisesti vaikuttavaa alalla tunnettua nukleiinihappoa, kuten DNA:ta, RNA:ta ja niiden fysiologisesti aktiivisia analogeja. Nukleotidit voivat koodata yksittäisiä geenejä tai ne voivat käsittää minkä tahansa rekombinoivan DNA:n alalla tunnetun vektorin, mukaanlukien rajoittamattomassa mielessä plasmidit, retrovirukset ja adenoliitännäiset virukset. Nukleotidit annostellaan sopivimmin kiinteän annostusjärjestelmän jauhemaisessa muodossa.

Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön lisäksi koostumukset, jotka käsittävät kiinteät annostusjärjestelmät, jotka sisältävät ennaltaehkäisevät bioaktiiviset materiaalit ja niiden kantoaineet. Sopivat koostumukset sisältävät immunogeenit, joita käytetään esimerkiksi rokotteissa. Nämä koostumukset sisältävät sopivimmin immunogeenisen määrän immunogeenejä, jotka saavat aikaan joko immunoinnin tai tehosteen istutuksen.

Sopivat immunogeenit sisältävät rajoittamattomassa mielessä elävät ja laimennetut virukset, antigeenejä koodaavat nukleotidivektorit, bakteerit, antigeenit, antigeenit ja lisäaineet, ja kantoaineisiin liitetyt hapteenit. Erityisen suositeltavia ovat immunogeenit, jotka aiheuttavat immuunivasteen kurkkumätää, jäykkäkouristusta, hinkuyskää, ruokamyrkytystä, koleraa, denguekuumetta, maksatulehdusta A, C ja D, hemofilusinfluenssaa b, herpesvirusta, Helicobacterium pylori -bakteeria, influenssaa,

japanilaista aivokalvontulehdusta, meningokokkisairautta A, B ja C, tuhkarokkoa, sikotautia, papilloomavirusta, pneumokokkia, poliota, vihurirokkoa, rotavirusta, hengityselimiin liittyvää solusitkosvirusta, punatautia, tuberkuloosia, keltakuumetta ja niiden yhdistelmiä vastaan.

Immunogeenejä voidaan myös valmistaa molekyylibiologisten tekniikoiden avulla rekombinanttipeptidien tai fuusioproteiinien muodostamiseksi, jotka sisältävät yhden tai useamman taudin aiheuttajista saadun proteiiniosan. Esimerkiksi kiinnostuksen kohteena olevaa antigeenia sisältävt fuusioprotetiinit ja koleramyrkyn B-alayksikkö ovat osoittuneet kykeneviksi saamaan aikaan immuunivasteen kiinnostuksen kohteena olevan antigeenin yhteydessä, katso Sanchez et al (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:481-485.

Immunogeeninen koostumus sisältää sopivimmin tietyn määrän tehokasta lisäainetta, joka on riittävä lisätäkseen immunogeeniin kohdistuvaa immuunivastetta. Sopivat lisäaineet käsittävät rajoittamattomassa mielessä alumiinisuolat, skvaleeniseokset (SAF-1), muramyylipeptidit, saponiinijohdannaiset, mykobakteerisoluseinäpreparaatit, monofosforyylilipidin A, mykolihappojohdannaiset, ionittomat segmenttikompolymeeripinta-aktiiviset aineet, Quil A:n, koleramyrkky B-alayksikön, polyfosfaseenin ja johdannaiset, ja immuunistimuloivat kompleksit (ISCOM), joita on selostanut esimerkiksi Takahashi et al (1990) julkaisussa Nature 344:873-875. Eläinlääketieteellistä käyttöä ja vasta-aineiden valmistusta varten eläimissä voidaan käyttää Freundin lisäainetta.

Samoin kuin kaikkien immunogeenisten koostumusten yhteydessä, immunogeenien immunologisesti tehokkaat määrät täytyy määrittää empiirisesti. Tässä yhteydessä kyseeseen tulevat tekijät käsittävät immunogeenisuuden riippumatta siitä, muodostaako immunogeeni kompleksiyhdistelmän lisäaineen tai kantoproteiinin tai muun kantoaineen kanssa tai onko se kovalenttisesti liitetty niihin, annostustavan ja annosteltavien immunointiannosten lukumäärän. Tällaiset tekijät tunnetaan rokotusten yhteydessä ja näiden määritysten tekeminen ilman tarpeettomia kokeiluja riippuu immunologien taidosta.

Jos vieras aine ja/tai väline sisältää karboksylia ja amino-, imino- tai guanidiiniryhmiä, annostusjärjestelmät käsittävät lisäksi sopivimmin ainakin yhden fysiologisesti

hyväksyttävän Maillardin reaktion inhibiittorin määrässä, joka estää tehokkaasti koostumuksen sisältävien aminoryhmien ja reaktiivisten karbonyyliryhmien kondensaation.

Maillardin reaktion inhibiittorina voi toimia mikä tahansa alalla tunnettu inhibiittori. Inhibiittorin määrä on riittävä estämään ainakin pääasiassa aminoryhmien ja reaktiivisten karbonyyliryhmien kondensaatio. Aminoryhmiä sisältyy yleensä bioaktiiviseen materiaaliin ja karbonyyliryhmiä sisältyy hiilihydraattiin tai päinvastoin. Amino- ja karbonyyliryhmät voivat kuitenkin olla molekyylin sisäisiä, joko biologisen aineen tai hiilihydraatin sisällä. Erilaisilla yhdisteluokilla tiedetään olevan Maillardin reaktiota estävä vaikutus ja siten niitä voidaan käyttää edellä selostetuissa koostumuksissa. Nämä yhdisteet ovat yleensä kilpailevia tai ei-kilpailevia inhibiittoreita. Kilpailevat inhibiittorit käsittävät rajoittamattomassa mielessä aminohappotähteet (sekä D että L), aminohappojäämien ja peptidien yhdistelmät. Erityisen suositeltavia ovat lysiini, arginiini, histidiini ja tryftofaani. Lysiini ja arginiini ovat kaikkein tehokkaimpia. On olemassa useita tunnettuja ei-kilpailevia inhibiittoreita. Nämä sisältävät rajoittamattomassa mielessä aminoguanidiinin ja johdannaiset, 4-hydroksi-5,8-dioksokinoliinijohdannaiset ja sopivat Maillard-inhibiittorit, joita on selostettu esimerkiksi julkaisussa EP-A-0 433 679.

Annostusmuodot

Edellä selostettujen annostusmuotojen lisäksi tässä yhteydessä tarjotaan käyttöön useita muita annostusmuotoja, jotka ovat sopivia erilaisia käyttötarkoituksia varten.

Keksinnön eräinä sovellusmuotoina ovat annostusjärjestelmät, jotka on mitoitettu ja muotoiltu orvaskeden läpi tunkeutumista varten ja joita voidaan käyttää ballistista annostusta varten. Sopiva välinekoko on siten mikronien suuruusluokkaa, läpimitan ollessa edullisesti 1-5 mikronia ja pituuden 5-150 mikronia, mikä mahdollistaa tunkeutumisen ja annostuksen ihon alle ja sen sisään, lihasten sisälle, laskimonsisäisiin kudoksiin. On selvää, että kooltaan tällainen annostusjärjestelmä voi makroskooppisesti esiintyä jauhemaisessa muodossa huolimatta sen rakenteesta mikroskooppisella tasolla.

Ballististen annostusjärjestelmien suositeltavina rakennemuotoina ovat mikroneulat ja mikrokuidut. Mikrokuitujen valmistus on suhteellisen helppoa ja taloudellista ja

tulokseksi saadaan vakaat annostusjärjestelmät, jotka käsittävät lasimaisessa muodossa olevan välineen ja vieraan aineen. Muita stabiloivia aineita, puskuriaineita, laseja ja polymeerejä voidaan myös lisätä käsittelyn aikana tässä yhteydessä selostetulla tavalla. Useat kaikkein labiileimmista biomolekyyleistä kykenevät kestämään korkeita lämpötiloja (esimerkiksi 60-100 °C), kun ne stabiloidaan kuivattamalla trehaloosissa, edellyttäen että suurin osa niiden pinnasta on kosketuksessa välineen kanssa. 70 °C suuruisia lämpötiloja voidaan sietää yli kuukauden ajan (Colaco et al (1992), Bio/Technology 10:1007-1011) ja korkeampia lämpötiloja lyhyempinä aikoina. Tässä yhteydessä esitetyt tulokset osoittavat, että fluoresenttista proteiinifykoerytriiniä kuivattuna trehaloosissa voidaan varastoida lämpötilassa 100 °C ainakin yhden kuukauden ajan ilman havaittavaa vähennystä toiminnallisessa aktiviteetissa. Muut välineet antavat suojaa alhaisemmissa lämpötiloissa kuin trehaloosi. Maksimaalinen suojalämpötila on määritettävä empiirisesti alaan perehtyneen henkilön taidosta riippuen ilman turhaa kokeilua.

Esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetuilla mikrokuiduilla on sangen suuri sivusuhde, so. pituuden suhde läpimittaan, läpimitan ollessa 1-5 mikronin suuruusluokkaa ja pituuden 5-150 mikronia. Tämä suuri sivusuhde saa aikaan lisääntyneen "suunnatun" tunkeutumisen ballistisen annostelun yhteydessä, jolloin mikrokuidut pyrkivät ryhmittymään ballistisen mikroinjektorin säiliön suuntaisesti, kuten seuraavassa yksityiskohtaisemmin selostetaan. Pitempiä mikrokuituja voidaan ruiskuttaa käyttäen tavanomaisia ballistisia törmäyslaitteita tai trokaarin avulla. Vaihtoehtoisesti voidaan makroskooppisia lasineuloja, joilla on riittävä luontainen lujuus, jotka voidaan pistää suoraan ihon läpi vieraan aineen ihonalaista, ihonsisäistä tai lihaksensisäistä annostelua varten.

Annostelujärjestelmien vaihtoehtoiset suositeltavat sovellusmuodot sisältävät yhtenäiset mikropallot, joilla on sopivimmin kapea kokojakautuma. Tämä rakennemuoto on erityisen käyttökelpoinen annostusjärjestelmän tunkeutumissyvyyden lisääntynyttä valvontaa haluttaessa. Tällaista valvontaa voitaisiin käyttää esimerkiksi rokotteiden ihonsisäisessä, lihaksensisäisessä ja laskimonsisäisessä annostelussa orvaskeden peruskerrokseen antigeenin saattamiseksi ihossa olevien Langehansin solujen läheisyyteen optimaalisen immuunivasteen aikaansaamiseksi.

Keksinnön sovellusmuotoina ovat myös ontot kuidut vieraiden aineiden annostusta varten. Vetämällä alas ontto aihio vyöhykeuunin kautta, joka pehmentää paikallisesti lasimaisen välineen, voidaan muodostaa hienoja onttoja neuloja. Nämä neulat voidaan täyttää hienojakoisella jauhemaisella stabiloidulla yhdisteellä asettamalla tämä hieno jauhe neulojen sisään sulatus- ja alasvetoprosessin aikana. Ontto kuitu voidaan myös tehdä kestomuovista, orgaanisesta polymeeristä ja/tai hiilihydraatista ja/tai HDC:stä, joka voi itsessään olla hitaasti tai nopeasti veteen liukenevaa ja/tai biologisesti hajoavaa.

Annostusvälineen eräs vaihtoehtoinen sovellusmuoto sisältää onton välineen, joka on tehty veteen niukasti liukenevasta lasista tai muovista, joka täytetään tai mahdollisesti päällystetään tässä yhteydessä selostetuilla annostusjärjestelmillä.

Keksinnön eräs toinen sovellusmuoto sisältää välineiden ja muiden huonosti veteen liukenevien materiaalien yhteiskoostumukset. Esimerkiksi veteen liukenevasta lasista, kuten fosfaatti-, nitraatti- tai karboksylaattilaseista tai biologisesti hajoavista muoveista, kuten laktidi- tai laktidi/glykolidikopolymeeristä, tehdyt yhteiskoostumukset ovat yleensä hitaammin kuluvia bioaktiivisen materiaalin viivästynyttä vapautusta varten.

Annostusjärjestelmien valmistusmenetelmät

Keksintö tarjoaa käyttöön lisäksi kiinteiden annostusjärjestelmien valmistusmenetelmät. Edellyttäen, että alttiinaoloaika on rajoitettu, kuiviin välineisiin sekoitetut vieraat aineet voidaan kuumentaa lasin tekemiseksi juoksevaksi, niin että se voidaan sitten vetää tai kehrätä kuiduksi tuotetta vahingoittamatta. Kuidut voidaan joko vetää aihiosta, jäähdyttää niiden jähmettämiseksi ja keriä sitten rummulle, tai ne voidaan kehrätä hienojen reikien kautta nopeasti pyörivässä sylinterissä, joka on kuumennettu välineen sulamispisteen yläpuolelle. Nämä kuidut voidaan luontaisen haurautensa johdosta helposti leikata tai murtaa, murskata tai pilkkoa lyhyisiin osiin lieriömäisten tankojen tai neulojen muodostamiseksi. Vaihtelemalla valmistettujen kuitujen läpimittaa, voidaan valmistaa mikrosta makroon olevia neuloja, so. muutamien mikronien paksuisista paksuudeltaan millimetrin osia oleviin neuloihin. On havaittu, että makeishattarakoneet ovat sopivia käytettäviksi läpimitaltaan hienompien mikrokuitujen valmistusta varten. Vaikka parhaat mahdolliset olosuhteet on määritettävä kokemusperäisesti kutakin välinettä varten, tällaiset määrittelyt sisältyvät selvästi alaan perehtyneen henkilön taitoihin.

Esillä olevan keksinnön mukaisten mikropallojen valmistamiseksi voidaan käyttää useita erilaisia menetelmiä annostusvälineiden halutun käyttötarkoituksen mukaisesti. Sopivat menetelmät sisältävät rajoittamattomassa mielessä suihkutuskuivauksen, jäädytyskuivauksen, ilmakuivauksen, tyhjökuivauksen, leijupetikuivauksen, jauhamisen, yhteissaostuksen ja superkriittisen väliainehaihdutuksen. Kysymyksen ollessa suihkutuskuivauksesta, jäädytyskuivauksesta, ilmakuivauksesta, tyhjökuivauksesta, leijupetikuivauksesta ja superkriittisestä väliainehaihdutuksesta komponentit (SP ja/tai HDC ja/tai muut lasinmuodostusaineet, vieraat aineet, puskuriaineet jne.) liuotetaan tai suspendoidaan ensin sopiviin liuottimiin. Jauhamisen yhteydessä komponenteista joko liuottimen haihtumisen tai sulamassan jäähdytyksen avulla muodostetut lasit jauhetaan kuivatussa muodossa ja käsitellään minkä tahansa alalla tunnetun menetelmän avulla. Kysymyksen ollessa yhteissaostuksesta komponentit sekoitetaan yhteen orgaanisissa olosuhteissa ja käsitellään seuraavassa selostetulla tavalla.

Suihkutuskuivausta voidaan käyttää välineen lastaamiseen vieraalla aineella. Komponentit sekoitetaan sopivissa liuotinolosuhteissa ja kuivataan täsmäsuuttimien avulla erittäin yhtenäisten pisaroiden muodostamiseksi kuivauskammiossa. Sopivat suihkutuskuivauslaitteet sisältävät rajoittamattomassa mielessä Buchi, NIRO, APV ja Labplant suihkutuskuivurit, joita käytetään valmistajan ohjeiden mukaisesti. Useat hiilihydraatit ovat sopimattomia käytettäviksi suihkutuskuivauksessa, koska hiilihydraattien sulamispisteet ovat liian alhaisia, aiheuttaen kuivuneiden amorfisten materiaalien tarttumisen kuivauskammion sivuille. Yleensä hiilihydraatit, joiden sulamispiste on suihkutuskuivauskammion käyttölämpötilaa alhaisempi, eivät sovi käytettäviksi suihkutuskuivauksessa. Esimerkiksi palatiniitti ja laktitoli eivät ole sopivia käytettäviksi suihkutuskuivauksessa tavanomaisissa olosuhteissa. Sopivien hiilihydraattien määrittely voidaan siten suorittaa tunnettujen sulamispisteiden avulla tai kokemusperäisellä tavalla. Tällaiset määrittelyt voi alaan perehtynyt henkilö tehdä.

Eräänä vaihtoehtoisena menetelmänä mikropallojen valmistamiseksi esillä olevan keksinnön mukaisiksi annostusvälineiksi käsittää vieraan aineen yhtenäisen vesipitoisen/orgaanisen faasi-emulsion valmistamisen välineliuoksessa vesifaasina ja lasinmuodostusaineena orgaanisessa faasissa tai päinvastoin. Tätä seuraa emulsiopisaroiden kuivattaminen viereen aineen ja välineen kiinteän liuoksen muodostamiseksi lasinmuodostusaineen amorfisessa matriisissa. Eräässä tämän menetelmän muunnel-

massa emulsio voidaan muodostaa välineessä kiinteässä liuoksessa olevasta vieraasta aineesta, tämän liuoksen käsittäessä kaksi yhdessä liuottimessa yhteen liuotettua erilaista lasinmuodostusainetta ja/tai polymeerejä, liuottamisen voidessa tapahtua myös kahdessa erillisessä liuottimessa. Liuotin tai liuottimet poistetaan sitten haihdutuksen avulla kaksi- tai moniseinäisten mikropallojen aikaansaamiseksi. Sopivia menetelmiä moniseinäisten mikropallojen muodostamiseksi ovat selostaneet esimerkiksi Pekarek et al (1994) julkaisussa Nature 367:258-260 ja US-patenttijulkaisu nro 4 861 627.

Annostusjärjestelmä voidaan kuivata myös SP:n ja vettä hylkivän vieraan aineen muodostamasta orgaanisesta liuottimesta lasin muodostamiseksi, joka sisältää kiinteässä tai hienossa polyolilasiliuoksessa olevan homogeenisesti jakautuneen vieraan aineen. Nämä lasit voidaan sitten jauhaa ja/tai mikronoida kooltaan homogeenisten mikrohiukkasten muodostamiseksi.

Vieras aine ja väline voidaan myös yhteissaostaa korkealaatuisten jauheiden valmistamiseksi. Yhteissaostus suoritetaan suihkuttamalla, esimerkiksi ilmaharjan avulla, erilaisia komponentteja ja/tai polymeerisia lasinmuodostusaineita nesteeseen, johon ne eivät liukene, kuten jääkylmään asetoniin.

Keksinnön sovellusmuotoina ovat myös ontot kuidut vieraiden aineiden annostusta varten. Vetämällä alaspäin kuumennettua onttoa aihiota voidaan muodostaa hienoja onttoja neuloja. Ne voidaan saada sisältämään hienoksi jauheeksi muodostettua stabiloitua yhdistettä asettamalla niihin hienoa jauhetta sulatus- ja alasvetoprosessin aikana. Ontto kuitu voidaan myös valmistaa kestomuovisesta orgaanisesta polymeeristä ja/tai hiilihydraatista ja/tai HDC-lasista, joka voi itsessään olla nopeasti veteen liukenevaa ja/tai biologisesti hajoavaa.

Keksinnön mukaisen annostusvälineen eräs vaihtoehtoinen sovellusmuoto käsittää onton välineen, joka on tehty veteen huonosti liukenevasta lasista tai muovista ja täytetty ja mahdollisesti päällystetty SP- ja/tai HDC-lasilla ja vieraalla aineella. Hitaasti veteen liukenevista epäorgaanisista tai orgaanisista laseista tehdyt ohuet ontot kuidut voidaan vetää ontosta aihiosta ja hienojauheinen SP-annostusjärjestelmä voidaan sisällyttää aihion ja siten myös kuidun keskiontelon sisään prosessin aikana.

Keksinnön eräässä toisessa sovellusmuodossa käytetään välineiden ja muiden veteen liukenevien materiaalien eri yhteiskoostumuksia. Esimerkiksi veteen liukenevista laseista, kuten fosfaattilaseista (Pilkington Glass Company) tai biologisesti hajoavista muoveista, kuten laktidista tai laktidi/glykolikopolymeereistä välineen kanssa, valmistetut yhteissovellukset antavat tulokseksi yleensä hitaammin kuluvan välineen vieraan aineen viivästettyä vapautusta varten. Näiden yhteissovellusmuotojen valmistamiseksi vierasta ainetta sisältävää hienon jauheen muodossa olevaa lasia voidaan perusteellisesti sekoittaa hienon jauheen muodossa olevaan lasiin ja suorittaa yhteissintraus. Vaihtoehtoisesti, jos metallikarboksylaattilasilla on alhaisempi sulamispiste kuin annostusjärjestelmällä, voidaan annostusjärjestelmä homogeenisesti upottaa koteloituneena karboksylaattilasiin jäähdyttämällä tulokseksi saatu sulamassa, joka voidaan jauhaa hienon jauheen saamiseksi, jonka liukoisuus on välineen suhteellisen nopean liukenevuuden ja karboksylaattilasin hitaan liukoisuuden välimailla.

Vaihtoehtoiset yhteiskoostumukset käsittävät hienojauheisen lasisen annostusjärjestelmän, joka koteloidaan karboksylaattilasiin homogeenisen suspension käytön kuivauksen avulla orgaanisesta liuotteesta, johon karboksylaatti liukenee, amorfisen jauheen muodostamatta kuitenkaan karboksylaattilasia. Tämä voi olla perustana hienon jauheen muodostamiselle, joka sisältäisi suhteellisen nopeasti liukenevan annostusjärjestelmän hitaasti liukenevan karboksylaattilasin sisällä (jota siis voidaan verrata tavanomaiseen hitaasti vapautuvaan järjestelmään). Jaksottaiset vapautusmuodot voidaan saada aikaan joko toistuvien kotelointijaksojen avulla käyttäen erilaisilla liukenevuusnopeuksilla varustettuja laseja, tai sekoittamalla useiden haluttuja vapautusominaisuuksia sisältävien rakennemuotojen hienoja jauheita keskenään. On otettava huomioon, että tätä lasia voitaisiin myös vetää tai kehrätä mikrokuitujen tai mikroneulojen valmistamiseksi, jotka käsittäisivät hitaasti vapautuvat istutteet. On selvää, että kaikki annostusjärjestelmäsovellukset olisivat sellaisia, että ne kykenisivät vapauttamaan vieraan aineen annostelun yhteydessä ja että ne eivät vaikuttaisi haitallisesti annosteltavan aineen pysyvyyteen.

Kuten edellä on selostettu, johdannaisina saaduista hiilihydraateista tehdyt lasit ovat myös sopivia käytettäviksi tässä yhteydessä. Sopivat johdannaishiilihydraatit käsittävät rajoittamattomassa mielessä hiilihydraattiesterit, eetterit, imidit ja muut veteen huonosti liukenevat johdannaiset ja polymeerit.

Annostusväline voidaan lastata vieraalla aineella kuivattamalla riittävän määrän välinettä sisältävä vierasaineliuos lasin muodostamiseksi kuivauksen avulla. Tämä kuivaus voidaan toteuttaa minkä tahansa alalla tunnetun menetelmän avulla, mukaanlukien rajoittamattomassa mielessä jäädytyskuivaus, tyhjö-, suihkutus-, hihna-, ilma- ja leijupetikuivaus. Kuivattu materiaali voidaan jauhaa hienoksi jauheeksi ennen sen lisäkäsittelyä yhdessä polyoliolasin tai muun rakennemuodon kanssa.

Erilaisia annostusjärjestelyjä voidaan myös soveltaa käytettävästä annostusvälineestä riippuen. Keksinnön mukainen väline voi tarjota käyttöön vieraan aineen nopean vapautumisen tai runsaan annoksen annostuksen jälkeen, annostusjärjestelmän ollessa helposti liukeneva. Välinesovellukset yhdessä veteen hitaasti liukenevien lasien tai muovien, kuten fosfaatti-, nitraatti- tai karboksylaattilasien ja laktidi/glykolidi-, glukuronidi- tai polyhydroksibutyraattimuovien tai polyesterien kanssa voivat tarjota käyttöön hitaammin liukenevia välineitä, joilla on hitaampi vapautusvaikutus ja pitkäaikaisempi annostusvaikutus. Pohjustus- ja tehostusvaikutus voidaan myös toteuttaa käyttämällä onttoa, hitaasti veteen liukenevaa välinettä, joka on täytetty ja päällystetty nopeasti liukenevalla SP- ja/tai HDC-lasilla, joka sisältää vieraan aineen. Vieraan aineen sisältävä lasipäällystys hajaantuu nopeasti antaen alkuperäisen annostusvaikutuksen.

Mitään annostusvaikutusta ei esiinny välineen onton ulkoisen seinäosan hajaantuessa. Alkupohjustusannosta seuraa kuitenkin sisäisen täytteen tehostusannos, kun ontto ulkoseinä on murtunut liukenemisen johdosta. Tällainen jaksottainen vapautusmuoto on erityisen käyttökelpoinen immunogeenisten koostumusten annostuksen yhteydessä. Vaikutukseltaan moninkertaista jaksottaista annostusta haluttaessa voidaan käyttää annostusyhdistelmiä, jotka sisältävät minkä tahansa "lastaamattomien" välineiden kerrosyhdistelmän ja vierailla aineilla varustettuja välineitä.

Useamman kuin yhden vieraan aineen annostus voidaan myös toteuttaa käyttäen annostusjärjestelmää, joka käsittää erilaisilla materiaaleilla tai niiden seoksilla varustetun välineen moninkertaisia päällysteitä tai kerroksia. Esillä olevan keksinnön mukaisten kiinteiden annostusjärjestelmien annostelua voidaan käyttää yhdessä muiden tavanomaisten terapioiden ja muiden terapeuttisten, ehkäisevien tai diagnostisten aineiden kanssa.

Annostusmenetelmät

Keksintö tarjoaa käyttöön lisäksi annostusmenetelmät kiinteitä annostusjärjestelmiä varten.

Vieraiden aineiden sopivat annostusmenetelmät käsittävät ilman rajoituksia paikalliset, transdermaaliset, limakalvojen kautta annettavat, suun kautta annettavat, mahan ja suoliston kautta annettavat, ihonalaiset, silmän kautta annettavat, lihaksensisäiset, laskimonsisäiset ja sisäänhengityksen avulla (nenä/nielun sekä keuhkojen sekä keuhkoputkien ja keuhkorakkuloiden kautta) annettavat sopivat annostusmenetelmät. Paikallinen annostus voidaan toteuttaa tietenkin esimerkiksi sideharson tai siteen avulla, johon on dispergoitu annostusjärjestelmä, tai annostamalla annostusjärjestelmä suoraan viiltoihin tai avohaavoihin. Voiteet ja salvat, joihin on dispergoitu annostusjärjestelmän sisältämiä hitaasti vapautuvia helmiä tai mikropalloja, ovat sopivia käytettäväksi esimerkiksi paikallisina voiteina tai haavantäyttöaineina.

Ihon kautta tapahtuvaa eli transdermaalista annostelua varten tarkoitetut koostumukset käsittävät sopivimmin homogeenisesti mitoitettujen mikroneulojen tai mikrohelmien muodossa olevien annostusjärjestelmien sisältämät jauheet. Annostusjärjestelmien suuremmat neula- ja helmimuodot tarjotaan myös käyttöön ihonalaista istutusta ja pidennettyä lääkeaineannostusta varten. Hiukkaskokojen olisi oltava riittävän pieni, niin että ne aiheuttaisivat vain minimaalisen ihovaurion annostuksen yhteydessä. Annostusjärjestelmien jauhemuodot voivat käsittää pituudeltaan noin 10-1000 mikronia ja läpimitaltaan 1-150 mikronia olevat mikroneulat. Jauheet voidaan esipakata yksiannoksisiin, suljettuihin steriileihin pakkauksiin.

Sopivat menetelmät transdermaalista annostusta varten sisältävät rajoittamattomassa mielessä suoran iskun avulla tapahtuvan, ballistisen, trokaari- ja nestesuihkuannostuksen. Suoraiskuannostusta varten tarvittavat mikroneulat voivat olla täsmämuodostettuja menetelmien avulla, jotka tunnetaan hyvin epäorgaanisen lasin muodostuksen alalla, kuten optisten kuitujen valmistusmenetelmät. Nämä neulat voitaisiin asettaa täsmämuodostettuun suljettuun muoviseen sovitussäiliöön ja ne voitaisiin pistää suoraan ihon läpi uppomännän avulla. Ballistinen annostelu on suotavaa, koska se on suhteellisen kivutonta. Annostusjärjestelmän toimintaa yleensä kiihdytetään heliumin tai muun kaasun aikaansaaman iskuaallon avulla ja se laukaistaan orvaskeden sisään.

Sopiva laite ballistista annostelua varten on selostettu julkaisussa PCT/GB 94/00753. Sopiva laite nestesuihkuannostelua varten on Medi-ject laite (Diabetes Care (1993) lb, 1479-1484). Tällaiset nestesuihkulaitteet ovat erityisen käyttökelpoisia yhdessä suurempien mikroneula-annostelujärjestelmien kanssa, joita voidaan myös annostella käyttäen tavanomaisia ballistisia iskulaitteita tai troakaaria.

Transdermaalisen annostuksen yhteydessä annostusjärjestelmän tunkeutumisastetta voidaan säätää tietyssä määrässä, ei vain seuraavassa selostetun ballistisen mikro-ruiskun, vaan myös jauhehiukkasten muodon ja koon avulla. Esimerkiksi silloin, kun halutaan suhteellisen yhtenäistä ja vähäisempää tunkeutumista, mikropallot voivat olla sopivampia esillä olevan keksinnön toteuttamista varten. Suurempaa tunkeutumisastetta haluttaessa mikroneulamuoto voi olla suotavaa.

Koska mikroneulojen sivusuhde (so. pituuden ja läpimitan välinen suhde) on korkea, niillä on suuremmat massat kuin läpimitaltaan samanlaisilla pallomaisilla hiukkasilla. Jos ne voidaan indusoida törmäämään ihoon "suunnatulla tavalla", niiden korkeampi massa antaa niille suuremman liikemäärän samaa nopeutta varten, ja ne tunkeutuvat siten syvemmälle kudosten sisään. Kun umpimähkäisesti suunnatut mikroneulat asetetaan kaasun laminaariseen virtaukseen, ne asettuvat ilmavirtauksen suuntaisesti ja kaasukäyttöisessä ballistisessa ruiskutuslaitteessa tämä takaa sen, että ne törmäävät ihoon oikeassa kulmassa tunkeutumisen varmistamiseksi.

Limakalvojen kautta tarkoitettua annostelua varten sopivat annostusjärjestelmät käsittävät rajoittamattomassa mielessä limakalvoon tarttuvat kiekkolevyt, kalvot tai jauheet, pastillit suun kautta tapahtuvaa annostusta varten, pessaarit ja renkaat tai muut välineet emätin- tai kohdunkaula-annostusta varten.

Maha-suoliannostusta varten sopivat seokset käsittävät rajoittamattomassa mielessä lääketieteellisesti hyväksyttävät jauheet, tabletit, kapselit ja pillerit ruoansulatusta varten sekä peräaukkoon asetettavat peräpuikot.

Ihonalaista annostusta varten sopivat seokset käsittävät rajoittamattomassa mielessä erilaiset istutteet. Nämä istutteet ovat sopivimmin makroskooppisen levyn, pallon tai lieriön muodossa niiden asetuksen helpottamiseksi ja ne voivat olla joko nopeasti tai hitaasti vapautuvia. Koska koko istute hajaantuu kehon nesteisiin, istutetta ei tarvitse

poistaa. Istutteet eivät myöskään sisällä synteettisiä polymeerejä ja ne ovat biologisesti hajoavia.

Silmän kautta tapahtuvaa annostusta varten sopivat seokset käsittävät rajoittamattomassa mielessä mikro- ja makropallorakenteet ja suolaliuospisarat, niitä sisältävät voiteet ja salvat sekä päistään pyöristetyt tangot, jotka sopivat vaivattomasti alemman silmäluomen alapuolella olevaan alempaan sidekalvonpohjukkaan.

Sisäänhengityksen avulla tapahtuvaa annostusta varten sopivat seokset käsittävät rajoittamattomassa mielessä annostusjärjestelmien jauhemaiset muodot. Näiden jauheiden hiukkaskoko on sopivimmin 0,1-10 mikronia. On vieläkin suotavampaa, että hiukkaskoko on 0,5-5 mikronia. Kaikkein edullisinta on, että hiukkaskoko on 1-4 mikronia. Erityisesti keuhkoannostelun yhteydessä suositeltava hiukkaskoko on 2,5-3 mikronia.

SP-annosteluvälinejauheet käsittävät sopivimmin tehokkaan määrän fysiologisesti hyväksyttävän määrän molekylääristä vesipumppupuskuriainetta (MWPB). MWPB on fysiologisesti hyväksyttävä suola, joka saa aikaan vesihäviön seoksesta, niin että ympäristön kosteudessa kiteytymisveden höyrynpaine on vähintään 14 mm Hg (2000 Pa) lämpötilassa 20 °C häiritsemättä välineen lasinmuodostusta. MWPB:n tehokas määrä vähentää riittävästi hygroskooppisuutta estäen esimerkiksi pääasiassa paakkuuntumisen kaliumsulfaatin 50 % moolisuhteen yhteydessä. Natriumsulfaatti ja kalsiumlaktaatti ovat suositeltavia suoloja, kaliumsulfaatin ollessa kaikkein suotavin.

Yhdistetyt HPC-annostusjärjestelmät ovat erityisen käyttökelpoisia sisäänhengitettäviä annostusmuotoina. Esimerkiksi annostusjärjestelmiin sekoitettu 10 painoprosentin αGPAC/TOAC kestää 95 % suhteellisen kosteuden (RH), mutta kiteytyy uudelleen tullessaan kosketukseen nestemäisen veden kanssa vapauttaen siten sisältämänsä vieraat aineet. Tämä on erityisen tärkeä asia sisäänhengitettäviä jauheita ajatellen, koska nämä jauheet sopivimmin kiteytyvät ja vapauttavat vieraita aineita osuessaan keuhkorakkulassa olevaan nesteeseen kosteissa henkitorven ilmaväylissä olevan nesteen sijasta.

Keksintö tarjoaa käyttöön myös jauheilla täytetyt sumuttimet ja höyrystimet. On olemassa useita erilaisia laitteita, joita voidaan käyttää jauheiden sisäänhengitykseen.

Ks. esimerkiksi Lindberg (1993) Summary of Lecture at Management Forum 6-7 joulukuuta 1993 "Creating the Future for Portable Inhalers". Tätä tarkoitusta varten sopivia lisälaitteita on selostettu rajoittamattomassa mielessä julkaisuissa WO9413271, WO9408552, WO9309832 ja US-patenttijulkaisussa nro 5 239 993.

Keksinnön sovellusmuotoina ovat myös muut kiinteät annostusjärjestelmät, jotka sopivat useiden muiden kuin lääketieteessä käytettyjen vieraiden aineiden annosteluun. Esimerkiksi maataloudessa käytettyä vierasta ainetta sisältävä HDC-lasi pysyy kuivana ollessaa hyllyllä jopa trooppisessa ilmastossa, mutta vapauttaa tuholaismyrkkyjä tai biologisia torjunta-aineita joutuessaan kosketukseen kasvien pinnoilla tai maaperässä olevan nestemäisen veden kanssa. Enstsyymin sisältävää HDC-lasia voidaan käyttää pyykinpesuaineissa, koska se stabiloi tämän entsyymin suurenkin kosteuden vallitessa, vapauttaen sen kuitenkin heti tullessaan kosketukseen veden kanssa. Esillä oleva keksintö tarjoaa käyttöön myös lukuisia muita sovelluksia, jotka alaan perehtynyt henkilö voi laatia.

Seuraavat esimerkit havainnollistavat rajoittamattomassa mielessä esillä olevaa keksintöä.

Esimerkki 1

Menetelmä SP mikrokuituisten lasimaisten kiinteiden annostusjärjestelmien muodostamiseksi

a) **SP mikrokuitujen muodostaminen**

Lasit muodostettiin kuivattamalla joko trehaloosin, laktitolin, palatiniitin tai GPS:n 20 % liuoksia, jotka sisältävät MWPB:tä ja 1 mg/ml fluoresenttistä leväproteiinin fycoerytriiniä tyhjön alaisena (80 mtorria) 16 tunnin ajan. Kasit jauhettiin kotitalouskäyttöisessä kahvimyllyssä karkean jauheen saamiseksi, jonka avulla täytettiin Kando K1 Kandy Floss hattarakoneen (GB patentti nro 1533012) pyörivä pää. Moottori kytkettiin sitten päälle ja jauhemainen sokerilasi kuumennettiin elementtiasetuksella 5-9. Viipymisaika pyörivässä päässä oli 2-10 minuuttia ja jatkuvaa prosessia pidettiin yllä täyttämällä pää jatkuvasti.

Valmistetut kuidut jauhettiin kotitaloudessa käytetyssä kahvimyllyssä ja saadut tulokset on esitetty taulukossa 3, joka esittää valmistettuihin neuloihin liittyviä keskimääräisiä tietoja. Näiden tietojen mukaisesti kaikkien kolmen sokerilasin yhteydessä pienentyneet elementtiasetukset johtavat läpimitaltaan pienempien mikroneulojen valmistukseen. Trehaloosin yhteydessä asetus 6 antoi tulokseksi mikroneulat, joiden keskimääräinen läpimitta oli 15 mikronia, ja asetus 9 keskimääräiseltä läpimitaltaan 40 mikronia olevat mikroneulat. GPS:n yhteydessä asetus 9 antoi keskimääräiseltä läpimitaltaan 15 mikronia olevat mikroneulat. Puskurisuoloja sisältävistä laseista tehdyt mikroneulat pysyivät kuivina ympäristölämpötilojen ja -koesteuspitoisuuksien yhteydessä. Fykoeryt-riiniä sisältävissä neuloissa esiintyi biologisen aktiviteetti säilyi fluoresenssin perusteella arvioituna.

TAULUKKO 3

Mikroneulan kokoanalyysi		
	Pituus (µm)	Leveys (µm)
Keskimääräinen	192,60	43,35
Standardivirhe	12,53	2,33
Keskiarvo	167,5	37,5
Moodi	137,5	47,5
Standardipoikkeama	123,44	22,91
Näytevaihtelu	15237,75	524,72
Taajuuskäyrän tasaisuus	16,17	2,55
Vinous	3,35	1,45
Alue	862,5	115
Minimi	67,5	10
Maksimi	930	125
Summa	18682,5	4205
Lukema	97	97
Luotettavuustaso (95,000 %)	24,57	4,56

b) Binäärisen SP/orgaanisen seoslasin mikrokuitujen muodostaminen

Lasit muodostettiin kuivattamalla 5:1:1 seos, joka käsitti trehaloosin, natriumoktanoaatin ja veden, tyhjön alaisena (80 mTorria) 16 tunnin ajan. Lasit jauhettiin kotitaloudessa käytetyssä kahvimyllyssä hienon jauheen aikaansaamiseksi, jonka avulla täytettiin Kando K1 Kandy Floss -koneen pyörivä pää. Moottori kytkettiin sitten päälle ja jauhemainen binäärinen hiilihydraatti/orgaaninen lasi kuumennettiin elementtiasetuksilla 5-9. Samoin kuin puhtaiden trehaloosilasien yhteydessä, pienemmät elementtiasetukset johtivat läpimitaltaan pienempien mikroneulojen valmistukseen. Binääriset seoslasit voidaan tehdä räätälintyönä huomattavasti erilaisilla veto-ominaisuuksilla varustettuina

vastaaviin puhtaisiin trehaloosilaseihin verrattuna. Viipymäaika pyörivässä päässä oli taas 2-10 minuuttia ja jatkuva prosessi pidettiin yllä täyttämällä pää jatkuvasti uudelleen. Saadut tulokset osoittavat, että muutoksia lasien sulamispisteissä ja dissoluutioajoissa sekä mikrokuitujen tuloksena olevissa fysikaalisissa ominaisuuksissa voidaan saavuttaa muuttamalla sekä käytössä olevia hiilihydraatti/orgaanisia molekyylejä että käytettyjä suhteita.

Esimerkki 2

Menetelmät jauhemaisten kiinteiden SP lasiannostusjärjestelmien valmistamiseksi

a) **SP:ssä vaikuttavan aineen sisällyttäminen lasimaisen mikronoitujen jauheiden aikaanmiseksi**

Lasit muodostettiin kuivattamalla joko trehaloosia, laktitolia, palatiniittia, GPM:tä tai GPS:ää sisältävät 20 % liuokset, jotka sisälsivät ekvimolaarisen suhteen MWPB:tä ja proteiinia, jäädytyskuivauksen avulla tyhjön (80 mTorria) alaisena 16 tunnin aikana. Lasit jauhettiin jauheeksi käyttäen Trost ilmasuihkumyllyä. Hiukkaskoko mikronikoossa olevassa jauheessa mitattiin käyttäen Malvern Mastersizer laserhiukkaskoonmäärityslaitetta. Mikronikoossa olevien jauheiden yhteydessä alkuperäisen liuoksen, joka käsitti 0,5 M trehaloosia ja 0,5 M kalsiumlaktaattia, saadut tulokset näyttivät monodisperssin hiukkasjakautuman, keskimääräisen hiukkaskoon ollessa 1,1 mikronia (kuvio 1). MWBP:tä sisältävät jauheet pysyivät vapaasti valuvina, eikä niissä esiintynyt mitään muutosta hiukkaskoon tai paakkuuntumisen ja vedenoton suhteen pitkäaikaisen alttiinaolon aikana ympäristölämpötilalle ja -kosteudelle (kuviot 2A ja 2B).

b) **SP:ssä vaikuttavan aineen sisällyttäminen lasimaiseen annostusvälineeseen suihkutuskuivattujen jauheiden valmistamiseksi**

20 % trehaloosiliuokset, jotka käsittivät MWPB-suoloja ja proteiinia (fykoerytriiniä), kuivattiin Buchi tai Lab-Plant suihkutuskuivurissa pumppunopeudella 500-550 ml/h ja tulolämpötilassa 180 °C. Hiukkaskoko mitattiin käyttäen Sympa-Tec laserhiukkaskokomäärityslaitetta. Suihkutuskuivatut jauheet sisälsivät

monodisperssin hiukkasjakautuman, jossa oli riittävän kapea huippukokojakautuma tehokasta käyttöä varten hiukkasina ballistisessa jauhelaitteessa. Kuvion 3 esittämissä tuloksissa suihkukuivatun jauheen, joka oli valmistettu suihkukuivattamalla 0,5 M trehaloosin ja 0,5 M kalsiumlaktaatin seosta Lab-Plant suihkutuskuivurissa, hiukkaskokoanalyysi osoitti keskimääräisen hiukkasläpimitan olevan 8,55 mikronia ja näytti tulokseksi saadun tiiviin huippuarvojakautuman.

Keskimääräistä hiukkaskokoa voidaan vaihdella muuttamalla joko suihkukuivatettavan seoksen koostumusta tai käytössä olevan suihkutuskuivurisuuttimen ominaisuuksia. Kuviossa 4 esitetyt tulokset näyttävät kuvion 3 kaltaiseen suihkukuivattuun jauheeseen ja suihkukuivattuun jauheeseen, joka on valmistettu käyttäen samaa seosta Buchi suihkutuskuivurissa, jossa käytetään erilaista suutinyhdistelmää, liittyvän hiukkaskokoanalyysin välisen vertailun. Kuviossa 4 esitetty huippujakautuma sisältää yhtä kapean vaihtelualueen, keskimääräisen hiukkaskoon ollessa kuitenkin tässä tapauksessa 7,55 mikronia.

Nämä tiedot osoittavat, että erilaisten suihkukuivausmenetelmien avulla saadut hiukkaset ovat yhtä sopivia seosten valmistamiseksi ballistista annostusta varten. On otettava huomioon, että mahdollisuus hiukkaskoon muuttamiseen johtaa seoksiin, joilla on erilaiset tunkeutumisominaisuudet. Tämä on erityisen tärkeää ihonsisäistä, lihaksensisäistä tai laskimonsisäistä annostusta määritettäessä, koska tunkeutuminen riippuu hiukkasen liikemäärästä ja jakautuma hiukkaskoon hajonnasta.

c) **SP:ssä vaikuttavan aineen sisällyttäminen lasimaiseen annostusvälineeseen kuivattamalla orgaanisista liuottimista**

50 mg/ml liuos CSA:ta 1:1 seoksena etanolia ja vettä, sisältäen 20 % trehaloosia, ilmakuivattiin ympäristölämpötilassa CSA:ta kiinteässä suspensiossa tai liuoksessa sisältävän trehaloosilasin muodostamiseksi. Lasi jauhettiin jauheen valmistamiseksi esimerkissä 1 selostetun menetelmän avulla, ja se pysyi vapaasti valuvana ympäristölämpötilassa ja -kosteudessa. Kun jauhetta lisättiin veteen, saatiin tulokseksi trehaloosin dissoluutio ja CSA:n yhtenäisen vesipitoisen suspension muodostuminen.

d) **SP:ssä vaikuttavan aineen sisällyttäminen lasimaiseenannostusvälineeseen yhteissaostuksen avulla**

Trehaloosin, laktitolin, palatiniitin, GPM:n ja GPS:n 20 % liuokset, jotka sisälsivät MWPB:tä ja proteiinia (fykoerytriiniä) kuivattiin suihkuttamalla ne asetonia ja kiinteää hiilidioksidia sisältävään jäädytyshauteeseen. Saostuneet jauheet erotettiin sentrifugoimalla tai suodatuksen avulla ja ilmakuivattiin jäljellä olevan liuottimen poistamiseksi. Jauheissa esiintyi taas monodisperssi hiukkasjakautuma ja puskurisuoloja sisältävät jauheet pysyivät kuivina ympäristölämpötilojen ja -kosteuden alaisina.

e) **SP:en hydrofobisen vaikuttavan aineen sisällyttäminen yhdistetyn lasimaisen kiinteän annostusvälineen aikaansaamiseksi kuivattamalla orgaanisista liuottimista**

Kahta erilaista liuotinjärjestelmää käytettiin yhdistettyjen lasien valmistamiseksi. Ensimmäisessä tapauksessa CSA:ta liuotettiin absoluuttiseen etanoliin ja vastaava määrä vettä lisättiin sitten hitaasti, ja kunkin lisäämiskerran yhteydessä saostuneen CSA:n sallittiin liueta uudelleen. Sen jälkeen trehaloosi liuotettiin 50 tilavuusprosentin etanoliliuoksessa 50 painoprosentin suuruiseen lopulliseen tilavuuteen. Yhdistetyt lasit valmistettiin haihduttamalla seosliuos kuumalla levyllä lämpötilassa 70 °C. Toisessa tapauksessa sekä CSA että trehaloosi liuotettiin DMF:ssä ja yhdistetty lasi valmistettiin taas haihduttamisen avulla edellä selostetulla tavalla. Molemmissa tapauksissa tulokseksi saatiin hieman opalisoiva lasi. Lasikalvojen päälle asetettiin sitten vesipisaroita lasien liukenemisen ja vapautumisominaisuuksien tutkimiseksi.

Saadut tulokset osoittavat, että lasit käyttäytyivät huomattavasti erilaisella tavalla. DMF:stä tehdyt lasit olivat vettä hylkiviä ja varustettuja ilmeisesti hydrofobisella pinnalla. Niihin kehittyi vähitellen saostunutta CSA:ta sisältäviä läpinäkymättömiä valkoisia läikkiä ja kokkareita kohdissa, joissa ne ovat kosketuksessa veden kanssa. 50-prosenttisesta etanolista tehdyt lasit olivat hydrofiilisia. Ne liukenivat nopeasti veteen ja tehdessään näin ne vapauttivat erittäin hienojen CSA-hiukkasten muodostaman pilven. Tämä lasi näytti sisältävän CSA:ta joko hienona kiinteänä suspensiona tai kiinteänä liuoksena trehaloosilasissa, joka vapautti CSA:ta

saostumana, kun trehaloosi luikeni. Sellaisenaan se edustaa erittäin käyttökelpoista annostusmuotoa CSA:ta varten, ja sillä on huomattava biologinen hyötyosuus yhtenäisen ja hienosti jakautuneen muotonsa ansiosta vapautumisen jälkeen.

Koostumukseltaan samanlaisten lasien erilainen käyttäytyminen kuivatuksen jälkeen erilaisista liuottimista viittaa mielenkiintoiseen ja käyttökelpoiseen menetelmään, joka tarjoaa käyttöön tarkan säätämisen erilaisten lasien saostuskuvion suhteen liuottimen haihtumisen aikana. Koska CSA liukenee helpommin DMF:hen kuin trehaloosi, tästä liuottimesta tehdyt yhdistetyt lasit, jotka käsittävät 10-20 % CSA:ta trehaloosin sekoitettuna, sisältävät yleensä hydrofiiliset trehaloosiytimet ja hydrofobiset CSA-päällysteet. Toisaalta taas 50 % etanolin hajotessa etanolin varhainen häviö 97 % atseotroopissa aiheuttaa CSA:n saostumisen trehaloosisiirapin ympäröimästä liuoksesta, joka sitten jähmettyy jatkuvana vaiheena johtaen CSA:n olemassaoloon kiinteässä trehaloosilasiemulsiossa.

Esimerkki 3

Proteiinien suojelu orgaanista liuotinta ja korotettuja lämpötiloja vastaan trehaloosissa tapahtuvan kuivatuksen avulla

a) **Piparjuuriperoksidaasin ja alkalifosfataasin suojelu asetonia vastaan kuivattamalla trehaloosissa**

0,1 mg/ml piparjuuriperoksidaasiliuosta tai 1 mg/ml emäksistä fosfataasia / 4 mg/l naudan seerumiabumiinililiuosta kuivattiin FTS Systems -kylmäkuivurissa yhdessä 50 % trehaalosin kanssa tai ilman sitä. Kuivuria käytettiin tyhjökuivurina ja seokset kuivattiin ilman jäädytystä. Liuoksen tilavuuteen verraten nelinkertainen määrä liuotinta lisättiin ja liuoksen annettiin haihtua kuivaksi. Sisältö liuotettiin uudelleen viiteen millilitraan vettä ja entsyymiaktiivisuus määriteltiin sarjalaimennuksen avulla kaupallisten "reagenssipakkausten" avulla. Emäksinen fosfataasipakkaus oli saatu Sigma Chemical Co:lta ja piparjuuriperoksidaasipakkaus Kirkegaard & Perry Laboratoties Inc:iltä. Kuten kuvioista 5A ja 5B näkyy, trehaloosin kanssa kuivatut entsyymit olivat kestävämpiä asetonin suhteen kuin ilman trehaloosia kuivatut entsyymit.

b) **Fykoerytriinin suojelu orgaanisia liuottimia vastaan kuivattamalla trehaloosissa**

400 µg/ml fykoerytriiniliuosta jäädytyskuivattiin Labconco jäädytyskuivurissa yhdessä 20-prosenttisen trehaloosin kanssa tai ilman sitä. Kuivattu proteiinijauhe asetettiin useiden orgaanisten liuottimien alaiseksi 72 tunnin ajaksi. Fykoerytriini pysyi fluoresenttisenä asetonissa, asetonitriili-kloroformissa ja metanolissa. Pyridiinissä fykoerytriini pysyi fluoresenttinä 24-48 tunnin ajan, mutta alkoi kostua ja menetti fluoresenttisyytensä 72 tunnissa. Dimetyylisulfoksidissa jauhe liukeni, mutta fykoerytriini pysyi fluoresenttisenä.

c) **Fykoerytriinin suojelu 100 °C lämpötilaa vastaan kuivattamalla trehaloosissa**

Pitoisuudeltaan 400 µg/ml oleva fykoerytriiniliuos jäädytyskuivattiin FTS kuivurissa yhdessä 20-prosenttisen trehaloosin kanssa tai ilman sitä. Kuivattu proteiini varastoitiin lämpötilassa 100 °C yhden kuukauden ajan ilman toiminnallisen aktiivisuuden häviötä.

Esimerkki 4

Kiinteän lasimaisen annostusjärjestelmän valmistus vieraan aineen sisältyessä yhdistettyyn SP:hen ja/tai HDC:hen ja/tai karboksyylaattilasiin

a) **Kiinteän lasiannostusjärjestelmän yhteismuodostaminen yhdistetystä SP:stä ja orgaanisista laseista haihduttamisen avulla**

Trehaloosia sisältävän MB9:n käsittävät mikrohiukkaset valmistettiin suihkutuskuivauksen avulla esimerkin 2b yhteydessä selostetulla tavalla. Kuivattu liuos sisälsi 0,39 M trehaloosia ja 0,14 M kalsiumlaktaattia ja 0,5 % MB9:ää. Nämä hiukkaset päällystettiin lisäämällä ne tolueenissa olevan sinkkipalmitaatin (ZnC_{16}) kyllästettyyn liuokseen ja suorittamalla jäähdytys 60 °C:sta 30 °C:een. Tällöin ZnC_{16}-kerros tuli kerrostetuksi hiukkasten päälle, jotka sitten suodatettiin tyhjön alaisena ylimääräisen ZnC_{16}-materiaalin poistamiseksi, pestiin asetonilla ja ilmakuivattiin. Tulokseksi saatu jauhe pysyi kostumattomana vedessä ainakin kolmen päivän ajan (hiukkaset kelluivat vedessä vajoamatta tai vapauttamatta MB9:ää ja vapauttivat sen jälkeen hitaasti väriainetta veteen). Siten muutoin veteen liukenevat jauheet voidaan tehdä vettäläpäisemättömiksi päällystämällä ne metallikarboksylaateilla, kuten ZnC_{16}:sta hidasvapautuksisten rakennemuotojen aikaansaamiseksi. On otettava huomioon, että päällystemateriaali on todennäköisimmin kidemuodossa lasin sijasta, joten kiinteän muodon, johon vieraat aineet on suspendoitu, ei tarvitse lasivaiheessa olla vettä läpäisemätön.

b) **Vaikuttavan aineen ja orgaaniset SP-lasit käsittävän kiinteän lasimaisen annostusjärjestelmän muodostaminen haihduttamalla**

Jauhettua trehaloosilasia, joka sisälsi fykoerytriiniä, lisättiin sekoitettuun karboksylaattilasiin, joka sisälsi 1:1 seoksen natriumoktanoaattia ja sinkkietyyliheksanoaattia liuotettuna ylimäärään kloroformia, ja haihdutettiin N_2-virtauksen alaisena huonelämpötilassa karboksylaattilasin muodostamiseksi, joka sisälsi fykoerytriinijauhetta kiinteänä suspensiona tai liuoksena. Tulokseksi saatu lasi pysyi veteen liukenemattomana vähintään 48 tunnin ajan. Fykoerytriini pysyi fluoresenttisena sekä alkuperäisessä orgaanisessa liuoksessa että lopullisen lasin muodossa.

c) **Vaikuttavan aineen ja orgaaniset SP-lasit käsittävän kiinteän lasimaisenannostusjärjestelmän muodostaminen yhteensulatuksen avulla**

Esimuodostettua orgaanista lasia muodostettiin jäähdyttämällä 1:1 seos natriumoktanoaattia ja sinkkietyyliheksanoaattia, sitten pehmennys suoritettiin 95 °C:ssa ja fykoerytriiniä sisältävää jauhemaista trehaloosilasia lisättiin sulamassaan. Tulokseksi saatu seos jäähdytettiin välittömästi alumiinikappaleessa, joka oli esijäähdytetty lämpötilaan 15 °C. Tulokseksi saatiin kirkas karboksylaattilasi, joka sisälsi koteloitua fykoerytriinijauhetta, joka säilytti biologisen toimivuutensa sen fluoresenttisyytensä mukaisesti arvioituna. Muuttamalla hiilihydraatin ja orgaanisten osuuksien luonnetta ja suhteita tuloksena olevissa laseissa, muodostettiin lasit, joilla oli vaihtelualueeltaan suuret hitaat vapautusominaisuudet niiden muuttuvien veteenliukenemisarvojen mukaisesti arvioituna.

d) **Vaikuttavan aineen ja HDC-lasit sisältävät SP-lasit käsittävän kiinteän lasiannostusjärjestelmän muodostaminen haihdutuksen avulla**

Annostusjärjestelmät valmistettiin suihkukuivauksen avulla käyttän Buchi B-191 suihkutuskuivuria. Esimuodostetut suihkukuivatut trehaloosi/MB9 -väri (1%) 6 μm hiukkaset (0,264 g) suspendoitiin TOAC:in (4 g) ja atsobentseenin (0,029 g) dikloorimetaanissa (100 ml) olevaan liuokseen suihkutuskuivurissa, jonka tulolämpötila oli 40 °C. Tulokseksi saatiin mutamainen keltainen hydrofobinen jauhe yhdessä TOAC-lasin kanssa, joka sisälsi sinistä väriainetta MB9 sisältävän trehaloosilasin koteloivaa keltaista atsobentseeniä. Yhdistetty annostusväline sisälsi voimakkaan veteen liukenevan sinisen väriaineen MB9 viivästyneen vapautuksen vesipitoiseen liuokseen upotettuna.

e) **Vaikuttavaa ainetta ja muoveja sisältävät SP-lasit käsittävän kiinteän lasiannostusjärjestelmän muodostaminen haihdutuksen avulla**

Esimerkin 1 mukaisesti valmistettua jauhemaista treehaloosilasia, joka sisälsi fykoerytriiniä, lisättiin ylimäärän kloroformiin liuotettuun perspex-liuokseen ja haihdutus suoritettiin N_2-virtauksen alaisena huonelämpötilassa kiinteän perplex-kappaleen saamiseksi, joka sisälsi kiinteässä liuoksessa olevaa fykoerytriinijauhetta. Tämä fykoerytriinijauhe pysyi fluoresenttisenä sekä alkuperäisessä orgaanisessa liuoksessa että uudelleen muodostetussa kiinteässä perspeksissä, joka ei päästänyt vettä lävitseen neljän viikonkaan kuluttua. Samanlaisia tuloksia saavutettiin, kun polyesteriä liuotettiin dikloorimetaaniin ja polyuretaania dimetyylisulfoksidiin.

Esimerkki 5

Annostelujärjestelmillä täytettyjen onttojen neulojen valmistaminen

Trehaloosilasiputkiaihion pää, tämän aihion keskiontelon ollessa täytettynä jauhemaisella trehaloseenilasilla, joka sisälsi esimerkin 1 mukaisesti valmistettua fykoerytriiniä, sulatettiin vyöhykeuunissa ja metallirumpuun tapahtuvan kietomisen avulla vedettyä kuivua kierrettiin vakionopeudella. Muodostetut ontot kuidut sisälsivät hienon jauheen muodossa olevan trehaloosilla stabiloidun yhdisteen ja ne voitiin leikata mihin tahansa haluttuun kokoon. Ontto kuitu voidaan valmistaa myös biologisesti hajoavasta kestomuovista tai orgaanisesta materiaalista tai HDC:stä ja vaihtelemalla muodostettujen kuitujen läpimittaa voidaan valmistaa täytettyjä neuloja mikroneuloista makroneuloihin asti, so. mikronien suuruisista paksuuksista paksuudeltaan millimetrin murto-osia oleviin neuloihin asti. Ontot neulat voidaan täyttää millä tahansa tässä yhteydessä selostetulla kiinteällä annostusvälineellä.

Esimerkki 6

Kiinteiden annostusjärjestelmien ballistinen annostus

Jauhemaisia laseja ruiskutettiin ihon sisään hypersonisella nopeudella käyttäen paineiskuaaltoa, joka saatiin aikaan painekaasun vapautuksen avulla. Jauhe pidettiin kammiossa, joka oli kiinnitetty suureen suppilomaiseen onteloon, jonka pienempään päähän oli liitetty painekaasua sisältävä patruuna, joka oli suljettu mylaarikalvon avulla. Hypersoninen iskuaalto syntyi mylaarikalvon rikkoutuessa. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää aikareleen avulla toimivaa solenoidia valvomaan heliumin vapautumista, mikä sallisi toiminnan alhaisemmilla heliumpaineilla. Tätä periaatetta käytetään hiukkasvirtauspistoolissa (PIG), jonka Finer on kehittänyt kasvikudosten muuntamista varten, Vain et al (1993), *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 33:237-246.

Esimerkki 7

Kiinteiden annostusjärjestelmien valmistus orgaanisesta lasista liuotinhaihdutuksen avulla

a) **Karboksylaattia sisältävien kiinteiden annostusjärjestelmien valmistus haihduttamalla liuoksista**

Alumiiniheksaonaattia liuotettiin kloroformiin (0,5g/10 ml) yhdessä yksi painoprosenttia MB9:ää sisältävän hienon suspension avulla, joka toimi indikaattoriväriaineena. Hieno amorfinen kalvo (100-200 μm) muodostettiin valamalla silikaattilasilevyille ja haihduttamalla liuotin pois lämpimässä ilmavirtauksessa. Väriaineen vapauttamista tislattuun veteen tarkkailtiin yli viiden tunnin ajan ja se on esitetty kuviossa 6. Näiden lasien kiteytymistä ei havaittu ja kalvot pysyivät läpinäkyvinä, vaikka ne menettivätkin väriään väriaineen diffundoituessa väliaineeseen.

Amorfisia kalvoja muodostettiin myös kalsiumneodekanoaatista, joka oli liuotettu kloroformiin (0,5 g/10 ml) edellä selostetulla tavalla. Väliaineen vapauttamista näistä paksummista (paksuus 1-2 mm) kalvoista tislattuun veteen tarkkailtiin

taas yli 24 tunnin ajan kuvion 6 esittämällä tavalla. Toisin kuin alumiinikalvoissa, väriaineen vapauttamista kalsiumneodekanoaattikalvoista seurasi kalvojen dissoluutio, jota tarkkailtiin kalsiumatomiadsorptiospektrosopian avulla.

b) **Yhdistettyjen kiinteiden lasiannostusjärjestelmien muodostaminen SP lasista, joka sisältää vaikuttavan aineen ja on sisällytetty karboksyylilasiin haihdutuksen avulla**

Yhden painoprosentin MB9:ää sisältävät glukoosilasikalvot muodostettiin jäähdyttämällä sulamassasta. Nämä kalvot päällystettiin ohuilla (paksuus 100 μm) amorfisilla metallikarboksylaattikalvoilla haihduttamalla karboksyyliä sisältävä kloroformiliuos (0,5 g/10 ml). Käytetyt metalliset karboksylaatit sisälsivät alumiiniheksanoaattia ja oktanoaattia, kalsiumneodekanoaattia ja magnesiumisostearaattia sekä neodekanoaattia. Kalvojen dissoluutiota tarkkailtiin vapauttamalla väriainetta tislattuun veteen. Nämä annostusjärjestelmät viivyttivät väriaineiden vapautumista minuuteista tunteihin olevan ajan verran, lukuunottamatta väriaineita, jotka muodostettiin magnesiumisostearaatista ja jotka viivästyttivät väriaineen vapautumista 10 päivää.

Esimerkki 8

Kiinteiden HDC-annostusjärjestelmien valmistaminen

Useita HDC-laseja valmistettiin sulatuksen ja jäähdytyskarkaisun avulla. Seuraavissa esimerkeissä käytetyt HDC-komponentit oli ostettu Aldrich Chemicalsilta lukuunottamatta TOPR:ää, joka valmistettiin synteettisesti Akoh et al:in (1987) selostaman menetelmän mukaisesti. Nämä komponentit muodostivat lasit, joissa esiintyi vain vähän tai ei ollenkaan hajoamista. Fruktoosi, sukroosi ja jossain määrin myös glukoosi sulavat yhdessä huomattavan hajoamisen tai polymerisaation kanssa. Esteri, kuten α-D-glukoosipenta-asetaatti on pysyvä sulamispisteessään ja muodostaa kirkkaan värittömän lasin ollessaan jäähdytyskarkaisun alaisena. Eetteri-ja esterijohdannaisten suurempi stabiilisuus muodostaa selvän edun reaktiivisia orgaanisia materiaaleja, kuten tuholaismyrkkyjä ja eliöntorjunta-aineita, koteloitaessa.

Erityisesti alhaisilla sulamispisteillä varustetut HDC:t muodostavat pehmeitä vahamaisia laseja jäähdytyskarkaisun jälkeen. Lasimaisen α-D-glukoosipenta-asetaatin NMR-spektrin havaittiin olevan identtinen kiteytetyn α-D-glukoosipenta-asetaatin spektrin kanssa.

β-D-glukoosipenta-asetaatista muodostettu lasi liukenee huonosti veteen ja tästä esteristä valmistettu kiekkomainen levy (läpimitta 20 mm ja paksuus 2,5 mm), joka asetettiin virtaavaan veteen, kadotti noin 33 % alkuperäisestä painostaan kymmenessä päivässä. Eräs toinen mitoiltaan samanlainen lasilevy valmistettiin α-D-glukoosipenta-asetaatista ja asetettiin yhteen litraan vettä, joka vaihdettiin kerran päivässä. Seitsemän päivän jälkeen lasi oli kadottanut 20 % alkuperäisestä painostaan. Koteloidun (Acid Blue) väriaineen vapautumisnopeus tästä lasista oli kuvion 7 osoittamalla tavalla sangen vakio. Väriaineen vapautumisnopeus oli ensimmäisenä päivänä suurempi, koska vapautuminen tapahtui pääasiassa lasilevyn pinnasta.

Erinomaisia tuloksia saatiin useita orgaanisia aineita koteloitaessa laseihin. α-D-glukoosipenta-asetaatista, joka sisälsi kaksi painoprosenttia taulukossa 4 esitettyjä materiaaleja, muodostettiin sulattamisen ja jäähdytyskarkaisun avulla lasilevyjä, jotka sitten jauhettiin. Fotokromi II käsittää 5-kloori-1,3-dihydro-1,3,3-trimetyylispiro[2H-indoli-2,3-[3H]-nafta[2,1-b] [1,4]]-oksatsiinin. Koteloidut materiaalit uutettiin sopivan liuottimen, kuten metanolin tai veden, avulla. Saadut tulokset on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4

Koteloitu materiaali	kp °C	sp °C	Sovellus
Happokeltainen 65		> 300	Vesiliukoinen väriaine
Happosininen 129		> 300	Vesiliukoinen väriaine
Hajotuspunainen 1		161	Ei-lineaarinen optinen materiaali
Peittaussininen 9		> 300	Vesiliuokoinen väriaine
Etyyliheksaonaatti	168		
Etyylioktanoaatti	207		
Oksadiatsoni		90	Tuholaismyrkky
Atsobentseeni	293		
Melatoniini		117	Eläinlääkintähormoni
Fotokromi 11		183	Fotokromi

Happosinisen 129 vapautumisnopeuksien havaittiin riippuvan lasien hajaantumisnopeuksista ja muodoista. Tuholaismyrkyn kaltainen oksadiatsoni hajaantui helposti tämän lasin sulamassassa noin 15 painoprosentin yhteydessä ilman ongelmia.

Esimerkki 9

Lasimaisten kiinteiden HDC-annostusjärjestelmien muodostus ja vapautusominaisuudet jäähdytyskarkaisun avulla sulamassasta

a) **Yksinkertaisten ja yhdistettyjen lasimaisten HDC-lasien muodostus ja vapautumisominauudet sulamassasta**

Seuraavien kokeiden yhteydessä muodostettiin annostusjärjestelmä käyttäen joko yksittäistä materiaalia tai seosyhdistelmää. Tämä toteutettiin jauhamalla perinpohjaisesti HDC-komponentit yhteen, mitä seurasi varovainen hallittu sulatus uunissa lämpötilassa 120-140 °C ja normaalissa lämpötilassa sulamassojen muodostamiseksi. Sulamassat jäähdytyskarkaistiin lasiksi kaatamalla ne messinkikappaleen yli. Tämä lasi jauhettiin sitten hienoksi.

MB9-väriainetta (1-5 painoprosenttia) sekoitettiin jauhettuun lasiin ennen uudelleensulatusta 140 °C:ssa. Sulamassa jäähdytyskarkaistiin pienten lasihelmien (läpimitta 2,5 mm) muodostamiseksi, joita käytettiin hallituissa vapautuskokeissa.

Koteloidun väriaineen hallittua vapautusta tarkkailtiin suspendoimalla kolme tällaista helmeä 25 tai 50 millilitraan ionitonta vettä tai PBS-liuosta ympäristölämpötiloissa (27-30 °C) tai 37 °C:ssa. Väliaine pysyi häiriintymättömänä lukuunottamatta ajoittaista hämmennystä ja se vaihdettiin tietyin välein uuteen väliaineeseen (yleensä 72 tunnin välein). Sekä yksinkertaisia HDC-laseja että yhdistettyjä HSC-laseja muodostettiin. Valmistetut HDC-seoslasit on esitetty taulukossa 5. Väriaineen vapautus mitattiin spektrofotometrian avulla (516 nm λmax) ja tulokset on esitetty kuvioissa 8-14. TOAC-lasi sisältää nollakertaluvun vapautusominaisuudet. Muiden HDC:ien käyttö lasinmuutosaineina yhdistetyissä HDC-laseissa mahdollistaa muodostettujen lasien tekemisen räätälityönä haluttujen vapautusominaisuuksien saavuttamiseksi.

Kuvio 8 esittää TOAC-annostusjärjestelmien nollannen kertaluvun vapautumisominaisuuksia. Kuviossa 8 tulokset saatiin TOAC-lasikiekoista (6 mm x 2,5 mm), jotka sisälsivät MB9-väriainetta tasaisesti dispergoituna niihin 2 painoprosentin määrissä. Vapautumista seurattiin 25 °C:sen lämpötilassa

sekoittamalla kevyesti ja vaihtamalla väliaine säännöllisin väliajoin. MB9-väriainevapautuminen 55 päivän periodin aikana on huomattavan lineaarinen. Kuviossa 8 esitetyt tulokset osoittavat, että puhdas HDC lasimainen annosteluväliainejärjestelmä mahdollistaa vieraan aineen nollannen kertaluvun vapautumisnopeudet. Kuvioissa 9-14 esitetyt tulokset osoittavat vapautumisnopeuksien vaihtelun, kun vaihdellaan eri HDC:en suhteita annostelusysteemeissä, vaihtelemalla hiilihydraattirungon pituutta ja vaihtelemalla hiilihydraattirunkoon kiinnittyneiden johdannaisten luonnetta. Jokaisessa tapauksessa on selvää, että HDC-annostelusysteemi tarjoaa laajan alueen vapautumisnopeuksille, joita voidaan säädellä ja räätälöidä vieraalle aineelle ja sen annostukselle sopiviksi.

Kuvio 9 esittää tuloksia, jotka on saatu kahden erilaisen HDC:n välisten suhteiden vaihdellessa annostusjärjestelmässä. MB9:n vapautusnopeus mitattiin TOAC/RUDA matriiseista, kuten kuviossa 8 on selostettu. Vapautusnopeuden voitiin havaita muuttuvan erilaisten sovellusten yhteydessä, mutta se ei kuitenkaan liittynyt suoraan RUDA-pitoisuuteen. Esimerkiksi korkeimman vapautusnopeuden havaittiin esiintyvän 75-prosenttisen TOAC:in (25-prosenttisen RUDA:n) yhteydessä, alhaisimman vapautusnopeuden esiintyessä 95-prosenttisen TOAC:in yhteydessä. Siten näiden annostusjärjestelmien nopeus voidaan helposti ja kokemusperäisesti saada selville.

Kuviossa 10 verrataan kolmen erilaisen HDC-yhteiskoostumuksen Tg-muutosta TOAC-määrien muuttuessa. Kolme erilaista sovellusta, TOAC/SHAC, TOAC/RUDA ja TOAC/α-GPAC, testattiin TOAC:in mooliprosentin lisääntyessä. Nämä tulokset osoittavat, että välineiden Tg-arvo lisääntyy suoraan niissä yhteissovellusmuodoissa, joilla oli aikaisemmin alhaisempi Tg TOAC/α-GPAC ja TOAC/SHAC.

Kuviossa 11 verrataan MB9-väriaineen vapautusprosenttia kahdesta erilaisesta vain TOAC/RUDA:a ja RUDA:a sisältävistä sovelluksista. RUDA sisältää kaksivaiheisen vapautusnopeuden, väriaineen alkuperäisen nopean vapautuksen ollessa noin 60 % väriaineesta viidessä päivässä ja hitaan vapautusnopeuden muutamia prosentteja väriaineesta seuraavien 25 päivän aikana. Pelkästään RUDA:n vapautusnopeutta TOAC:in läsnäolo muuttaa huomattavasti. 50%

RUDA:a sisältävä sovellus sisältää lähes lineaarisen vapautusnopeuden, joka on suurempi kuin 10 % RUDA:a sisältävässä sovelluksessa.

Kuviossa 12 verrataan MB9-väriaineen vapautusta TOAC:ia (75 %) sisältävissä yhteissovelluksissa, jotka sisältävät myös joko SOAC:ia tai COAC:ia, osoittaen hiilihydraattirungon muuttamisen vaikutuksen. Tulokset osoittavat, että vapautusnopeuksia voidaan muuttaa tällä tavoin, jolloin TOAC/COAC sovellus sisälsi lisääntyneen vapautusnopeuden TOAC/COAC sovellukseen verrattuna.

Kuviossa 13 verrataan MB9-väriaineen vapautusnopeutta kahden HDC-komponentin, jotka sisältävät erilaiset hiilihydraattirungon pituudet, TOAC ja α-GPAC, muodostamasta sovelluksesta. Vapautusnopeudet eivät liity suoraan TOAC:in painoprosenttiin 50-prosenttisen TOAC:in sisältäessä alhaisimmat vapautusnopeudet ja 25-prosenttisen TOAC:in korkeimmat nopeudet. Tässäkin tapauksessa nopeudet voidaan helposti määrittää kokemusperäisesti.

Kuviossa 14 verrataan MB9-väriaineen vapautusnopeutta kahdesta erilaisesta HDC-komponenttien sovellusmuodosta, saman hiilihydraattirungon ja erilaisten johdannaisten, TOAC:in ja TOPR:in esiintyessä. Tulokset osoittavat, että lisäämällä 25-prosenttista TOPR:ia TOAC-annostusjärjestelmään saavutetaan huomattava vähennys vieraan aineen vapautusnopeudessa.

Taulukko 5

Lasijärjestelmä	MB9-painoprosentti	Lämpötila °C	%-suhteet
1. TOAC	1 ja 5	RT, 37	100
2. RUDA	1 ja 5	RT	100
3. TOAC/SOAC	1	RT	75 (ppr)
4. TOAG/αGPAC	1	RT, 37	75 (ppr)
5. TOAC/COAC	1	RT	75 (ppr)
6. TOAC/TOPR	1	RT	75 (ppr)
7. TOAC/βGPAC	1	RT	75 (ppr)
8. TOAC/αGPAC	1	RT	90,75,50,25 (mooli-%)
9. TOAC/RUDA	1	RT	90,75,50,25 (mooli-%)

b) **Vieraiden liittäminen HDC:ssä sulamassan jäähdytyskarkaisun avulla**

Synteettistä kortikosteroidia XPDO (selostettu seuraavassa) liuotettiin TOAC-sulamassaan ja jäähdytyskarkaisu suoritettiin lasimaisen kiinteän annostusjärjestelmän muodostamiseksi. Tarkastelemalla MB9:n vapautusta vesipitoiseen liuokseen nämä kokeet testasivat steroidin yhteensopivuuden lasin kanssa ja steroidin myöhemmin tapahtuvan talteenoton ja tutkivat vaikutusta, joka XPDO:lla on muodostetun annostusjärjestelmän ominaisuuksiin tarkastelemalla MB9:n vapautusta vesipitoiseen liuokseen. TOAC:ia (3,21 g) esisulatettiin 150 °C:ssa ennen jäähdytyskarkaisua lasiksi. Lasi jauhettiin hienoksi yhdessä XPDO:n (0,15 g) kanssa ennen uudelleensulatusta. Kirkas sulamassa jäähdytyskarkaistiin vielä kerran yhdistetyn HDC-aktiivisen lasin muodostamiseksi. Terminen analyysi suoritettiin rheometrisellä tieteellisellä differentiaaliskannauskalorimetrillä (DSC) kuumennusnopeudella 10°/minuutissa typpi-ilmakehän alaisena. Seuraavat näytteet valmistettiin:

1.	TOAC/XPDO (5 p-%)	Tg = 50,6 °C
2.	TOAC/XPDO (5 p-%) + MB9 (1 p-%)	Tg = 50,9 °C
3.	TOAC pelkästään	Tg = 50,1 °C
4.	TOAC/MB9 (2 p-%)	Tg = 50,3 °C

Lasimaisen kiinteän HDC-järjestelmän vapautusominaisuuksia tutkittiin tarkkailemalla MB9:n vapautumista TOAC/XPDO laseista kuvion 15 esittämällä tavalla. Vaikuttavan aineen stabiilisuuden tutkimiseksi lasimaisissa kiinteissä HDC-annostusjärjestelmissä XPDO:ta otettiin talteen näytteistä liuottamalla lasi asetonitriiliin ja suorittamalla analysointi HPLC:n avulla. Vieras aine saatiin täysin talteen silloinkin, kun varastointi tapahtui 45 °C:ssa neljän viikon ajan.

Esimerkki 10

Lasimaisten kiinteiden HDC-annostusjärjestelmien muodostaminen liuoksen haihduttamisen avulla

a) **HDC-lasien muodostaminen liuoksen haihduttamisen avulla**

Kuten edellä on mainittu, TOAC:in havaittiin muodostavan hyvän annostusvälineen jäähdytyskarkaisun avulla sulamassasta. Tällaisella annostusjärjestelmällä on alhainen sulamispiste ja erittäin vähäinen pyrkimys kiteytyä uudelleen. Sen jälkeen tehtiin koesarja TOAC-laseilla liuoksen haihduttamisen avulla 3 x 1" natronlasilevyillä.

Dikloorimetaani (DCM) ja kloroformi ovat normaaleja liuottimia TOAC:tä varten, joka liukenee myös muihin liuottimiin, kuten asetonitriiliin. DCM:ää käytettiin kaikkia myöhemmin tehtyjä kokeita varten.

Lasit valmistettiin haihduttamalla DCM:ää 65 °C:en lämpötilassa olevalla kuumalla levyllä 25-prosenttisista TOAC-liuoksista (50-prosenttisten liuosten yhteydessä kiteitä usein kasaantui pipetin kärkeen). Kuivatus suoritettiin kahden tunnin ajan täydellisen kuivuuden varmistamiseksi. Yhtenäiset lasit valmistettiin käyttäen Eppendorf-tyyppistä pipettiä 100 µl annostelemiseksi lasilevylle, joka oli juuri asetettu kuumalle levylle, ja poistamalla sitten noin 50 µl käyttäen hyväksi pipetin

kirkasta poistotilavuutta. Tulokseksi saadut lasit olivat hyvin kirkkaita ja kiinnitarttuvia vastatehtyinä, mutta ne kiteytyivät vähitellen uudelleen yhden kuukauden aikana huonelämpötilassa (RT) ja 50-60 % suhteellisessa kosteudessa (RRH).

Trehaloosilasit, jotka oli tehty samalla tavoin haihduttamalla vettä 50-prosenttisesta trehaloosiliuoksesta, olivat kirkkaita vastamuodostettuina, mutta ne kiteytyivät vähitellen uudelleen useiden viikkojen aikana.

b) **Vaikuttavan aineen sisällyttäminen HDC-laseihin liuoshaihdutuksen avulla; sisäänhengittämistä varten sopivat jauheet**

XPDO on steroidinen tulehduksia estävä yhdiste. Kemiallisesti se on 6α,9α-difluori-11β,21-dihydroksi-16α,17α-propyylimetyleenidioksi-4-pregneeni-3,20-dioni. XPDO kiteytyy kierukkoina, jotka pakkautuvat yhteen neuloina jättäen väliinsä suuret molekyylien väliset tyhjät tilat, jotka sitovat itseensä vesimolekyylejä zeoliittien tavoin. Tämä tekee steroidin riittävän hygroskooppiseksi estämään sen käytön kuivajauheena sisäänhengityslaitteessa, joka on suositeltava annostelumuoto. Amorfisessa (ei-kiteisessä) muodossa XPDO ei ole hygroskooppinen, mutta kemiallisesti epästabiili. Tutkimukset, jotka kohdistuivat tämän yhdisteen stabiloimiseen trehaloosin avulla, olivat menestyksettömiä ja ei ollut mahdollista valmistaa ei-hygroskooppista jauhetta.

XPDO liitettiin siten TOAC-lasiin liuottamalla sekä kiteistä TOAC:ia että XPDO:ta DCM:än ja haihduttamalla liuotin 70 °C:ssa kuumalla levyllä. XPDO:ta käytettiin 10 ja 20 prosentin määrissä kiinteiden aineiden kokonaismäärästä lopullisessa TOAC-lasissa. Nämä lasit olivat täysin vesikirkkaita ja läpinäkyviä. Varastoituina 75 %, 81 %, 90 % ja 95 % suhteellisessa kosteudessa neljän viikon ajan niiden lasirakenteessa ei näkynyt mitään uudelleenkiteytymisen kaltaista muutosta.

Kuitenkin nestemäiseen veteen upotetun lasin pinta kiteytyi hitaasti uudelleen, jolloin TOAC:in mikroskooppiset pyramidin muotoiset kiteet voitiin nähdä käännetyn mikroskoopin avulla 15-30 minuutin kuluessa veden lisäämisestä. Kiteytyminen kehittyi hitaasti ja muutamien muiden minuuttien kuluessa ilmestyi näkyviin XPDO:ta käsittävien tyypillisten neulan muotoisten kiteiden pieniä

ryhmiä. Koska sekä neulan muotoiset XPDO-kiteet että pyramidin muotoiset TOAC-kiteet eivät tarttuneet allaolevaan lasiin, ne pestiin helposti pois tuoreen lasipinnan paljastamiseksi hidasta lisäliuotusta varten. XPDO:n täydellinen poistumisen TOAC-kiteistä varmisti sen, että tämä molekyyli, joka oli aikaisemmin liitettynä lasiseen TOAC-matriisiin, vapautettiin nyt nestemäiseen faasiin.

c) **Vaikuttavan aineen sisällyttäminen HDC-laseihin liuoshaihdutuksen avulla; sisäänhengitystä varten sopivat suihkukuivatut jauheet**

Tutkimuksia suoritettiin käyttäen DCM:ään liuotettua synteettistä kortikosteroidi XPDO:ta. Liuos suihkukuivattiin Buchi B-191 suihkutuskuivurissa käyttäen tulolämpötilaa 40 °C. Tulokseksi saatiin amorfinen hieno valkoinen jauhe, joka sisälsi XPDO:ta kiinteänä liuoksena. XPDO:n määrä oli 20 painoprosenttia. Jauhe oli täysin amorfista, mikä varmistettiin termisen analyysin avulla (Tg=46 °C).

Analyysia varten tarkoitettu XPDO uutettiin suihkukuivatusta jauheesta liuottamalla tämä jauhe asetoninitriiliin ja laimentamalla asetoninitriili sitten natriumfosfaattipuskuriaineeseen ennen HPLC:n avulla tehtyä analyysiä. Näytteet laadittiin testaamaan XPDO:n stabiilisuutta suihkukuivatuissa sovelluksissa lämpötilassa 45 °C, näiden sovellusten ollessa varastoituina kyllästetyn sinkkisulfaatin (RH 80-85 %) avulla.

Vapautusta varten natriumfosfaattipuskuriaineeseen 0,0868 g suihkukuivattua jauhetta ravisteltiin 10 millilitrassa puskuriainetta yhden minuutin ajan. Suspensiota suodatettiin sen jälkeen 0,2 µm suodattimen kautta. HPLC:llä analysoitaessa tehtiin se johtopäätös, että XPDO:ta vapautettiin tehokkaasti vesipitoiseen liuokseen. Annostusjärjestelmästä tulevan steroidin biologinen hyötyosuus testattiin upottamalla se vesipitoiseen liuokseen lyhyeksi ajaksi. Steroidin stabiilisuus suihkukuivatussa sovelluksessa testattiin erittäin kosteissa olosuhteissa ja lämpötilassa 45 °C (molemmat tekijät ovat tärkeitä, jos sisäänhengitettävää jauhetta halutaan käyttää menestyksellisesti). Tulokset osoittivat kestävyyden olemassaolon suuren kosteuden suhteen, lasin stabiilisuuden ja helpon biologisen käytettävyyden koeolosuhteissa. Mitään merkkiä hajoamisesta ei havaittu suihkukuivatun lasijauheen HPLC-analyysin yhteydessä edes neljän viikon varastoinnin jälkeen 45 °C lämpötilassa ja 85 % suhteellisessa kosteudessa.

d) **Vieraiden aineiden sisällyttäminen HDC-laseihin liuoshaihdutuksen avulla; hitaasti vapautuva CSA**

Syklosporiini (CSA, Sandimmune© on hydrofobinen syklinen peptidi, jota käytetään immunosupressivisena aineena erityisesti elinsiirtopotilaiden yhteydessä. CSA:a annostellaan suun kautta sekä laskimon sisäisesti. Se liuotetaan alkoholiin annostelua varten. Kliinisessä toiminnassa tämän lääkkeen pitoisuudet veressä ovat voimakkaiden vaihtelujen alaisia johtuen epäluotettavasta absorptiosta proksimaalisesta tyhjäsuolesta (jejunum). Tämä ongelma voitaisiin välttää, jos CSA:ta vapautuisi vakionopeudella useiden tuntien ajan absorptiota varten sopivassa muodossa.

CSA:ta liitettiin TOAC-lasiin liuottamalla sekä kiteistä TOAC:ia että CSA:ta DCM:ään ja haihduttamalla liuotin 70 °C:ssa kuumalla levyllä. CSA:ta käytettiin 5 %, 10 % ja 20 % määrissä kiinteiden aineiden kokonaismäärästä lopullisessa TOAC-lasissa. Nämä lasit olivat täysin vesikirkkaita ja läpinäkyviä. Ollessaan varastoituina 75 %, 81 %, 90 % ja 95 % suhteellisessa kosteudessa neljän viikon ajan lasirakenteessa ei havaittu mitään uudelleenkiteytymisen kaltaista muutosta. Upotettuna veteen nämä lasit käyttäytyivät XPDO:ta sisältävän lasin tavoin, so. ne kiteytyivät hitaasti uudelleen erillisinä TOAC- ja CSA-kiteinä.

e) **Lasimaisten kiinteiden annostusvälineiden muodostaminen yhdistetyistä HDC-laseista liuoshaihdutuksen avulla**

TOAC:in lisäksi kahta muuta vettä hylkivää muunnettua sakkaridia, α-GPAC ja TOPR, on tutkittu seoksissa ominaisuuksiltaan parannettujen seoslasien aikaansaamiseksi.

Näiden HDC-parien muodostamat seoslasit valmistettiin sekoittamalla kidekomponentteja eri suhteissa ja valmistamalla sitten lasit joko luottimena toimivan DCM:n haihduttamisen avulla kuumalla levyllä tai suorittamalla sulatus 150 °C:ssa ja jäähdytyskarkaisu messinkilevyllä.

Tulokseksi saadut lasit testattiin niiden käyttökelpoisuuden suhteen hallitusti vapauttavina matriiseina kahdella tavalla. Ensiksi arvioitiin niiden kyky vastustaa kiteytymistä niiden ollessa korkean kosteuden alaisia huonelämpötilassa. Toiseksi ne upotettiin veteen tai fosfaatin avulla puskuroituun suolaliuokseen (PBS) niiden liukenevuuden ja kulumisnopeuden tutkimiseksi uudeleen tapahtuvan pintakiteytymisen avulla.

Sekä α- että β-GPAC:ia sisältävia yksikomponenttisia laseja voitiin valmistaa vain jäähdytyskarkaisun avulla sulamassasta. Kun liuotin haihtui, tätä HDC:tä sisältävät liuokset aina kiteytyivät. TOAC:ia ja TOPR:ia sisältäviä yksikomponenttisia laseja valmistettiin helposti joko liuottimen haihtumisen tai jäähdytyskarkaisun avulla, mutta ne olivat sangen alttiita kiteytymiselle korkean kosteuspitoisuuden vallitessa, jolloin ohuet lasikalvot kiteytyivät uudelleen täydellisesti mikroskooppilasilevyillä ja jäähdytyskarkaistujen levyjen pinta kiteytyi uudelleen 75 % - 95 % suhteellisessa kosteudessa ollessaan yön yli sen vaikutuksen alaisena. Seoslasit käyttäytyivät taulukossa 6 esitetyllä tavalla.

Taulukko

% GPAC	% TOAC	% TOPR	alkuperäinen muoto	suhteellisen kosteuden alaisena 24 h ajan
	100		lasi	kide ++++
10	90		lasi	lasi
	90	10	lasi	lasi
50	50		lasi	lasi
90	10		kide ++++	ND
80	20		kide +	kide ++++
90		10	kide ++++	ND

Nämä tulokset osoittavat, että erilaisten suhteellisten kosteuspitoisuuksien vaikutus oli sangen yhtenäinen. Vaikka puhdas TOAC ja jotkut seoslaseista kiteytyivät kaikkien suhteellisten kosteuksien alaisina 75 prosentista 95 prosenttiin asti, muut seoslasit pysyivät amorfisina kaikkien tutkittujen suhteellisten kosteuksien vaikuttaessa.

TOAC-lasit, jotka käsittivät 10 % α-GPAC:ia ja 10 % TOPR:ia ja 50:50 moolisuhteessa TOAC:α-GPAC:ta sisältävät lasit upotettiin myös veteen niiden kiteytymisnopeuden tutkimiseksi nestemäisessä vedessä kostean ilman sijasta. Ensimmäinen lasi kiteytyi uudelleen 20-30 minuutin kuluessa, kun taas toisessa lasissa kehittyi muutamia kiteitä neljän tunnin kuluttua, 50:50 lasin pysyessä muuttumattomana neljän päivän ajan ilmaisten siten hämmästyttävän alhaista liukenevuutta.

Toimiessaan välineenä lääkeaineiden jauhemaista annostusta varten syvälle keuhkoihin, 10-prosenttinen α-GPAC TOAC-lasi sisälsi erittäin suotavia kestävyysominaisuuksia 95 % suhteellisen kosteuden alaisena, joita saatettaisiin odottaa hengityslaitteen ja ilmaväylien yhteydessä, sen kiteytyessä samalla nopeasti nestemäisessä vedessä, kuten keuhkorakkuloita päällystävässä nestekerroksessa.

TOAC-lasit, jotka sisältävät 10 % tai suuremman lisäyksen α-glukoosipenta-asetaattia tai trehaalosioktapropanoaattia tai ovat ilman sitä, tarjoavat käyttöön tietyn kestävyysalueen ympäristön suhteelliselle kosteudelle ja määrätyt liukenevuusnopeudet, sallien tietyn sovitusmahdollisuuden tällaisiin laseihin dispergoitujen lääkeaineiden hallitun vapauttamisen suhteen.

f) **Vaikuttavan aineen sisällyttäminen yhdistettyihin hitaasti vapautuviin HDC ja/tai SP laseihin liuoshaihdutuksen avulla**

Parasta mahdollista käyttökelpoisuutta varten HDC:eiden hitaita vapautusominaisuuksia olisi käytettävä yhdessä sekä hydrofobisten että hydrofiilisten molekyylien kanssa. Edelliset valmistetaan helposti kiinteänä liuoksena yhdessä HDC:ssa joko liuoshaihdutuksen tai suoran liuotuksen avulla sulamassaan jäähdytyskarkaisua käyttäen. Hydrofiiliset molekyylit eivät suoraan liukene HDC:hen.

Olemme nyt löytäneet huomattavan käyttökelpoisen menetelmän hydrofiilisten aineiden sisällyttämiseksi erittäin yhtenäisen ja käyttökelpoisen jakautumisen avulla HDC-matriisiin. Tätä menetelmää voidaan havainnollistaa hyvin käyttämällä trehaloosia hydrofiilisena aineena ja TOAC:ia hydrofobisena matriisina. Hyviä liuottimia sekä muunnettua että luontaista trehaloosia varten ovat DMF ja DMSO. Kun 10 % trehaloosia ja 90 % TOAC:ia DMF:ssä olevana liuoksena haihdutetaan kuivaksi, saadaan tulokseksi ulkonäöltään huurteinen tai opaalinhohtoinen lasi. Mikroskoopin avulla tarkastellen kyseessä ovat jakautumaltaan erittäin yhtenäiset pallomaiset lasiset mikrohelmet, joilla on yhtenäinen koko jatkuvassa matriisissa (kuviot 16 ja 17). Karkean mittauksen avulla silmähiusristikkoa käyttäen mikrohelmien läpimitaksi saadaan noin 4 mikrometriä.

Kahden faasin identtisyys todennettiin ottamalla käyttöön pieni määrä erittäin hydrofobista lipidiväriainetta. Oil Red 0:ta yhdessä pienen hydrofiilisen väriainemäärän, DMF:ään liuotetun metyleenivihreän (Methylene Green) kanssa, jotka voidaan lisätä ennen lasin valmistusta. Kuten voidaan odottaa, hydrofobinen Oil Red 0 jakautui ainoastaan jatkuvaan faasiin, paljastaen sen olevan TOAC:ia, kun taas hydrofiilinen metyleenivihreä jakautui pelkästään epäjatkuviin yhtenäisiin hiukkasiin, jotka osoittautuivat käsittävän trehaloosia (kuvio 18). Tällä tavoin

tulokseksi saatu seoslasi käsitti erittäin yhtenäisen ja vakaan lasin "kiinteänä lasiemulsiona" tai "kiinteänä suspensiona" kiinteiden liuosten sijasta, jotka voidaan havaita hydrofobisten vieraiden aineiden XPDO:n, CSA:n, tai Oil Red 0:n yhteydessä.

Kun samoja trehaloosin ja TOAC:in seoksia haihdutetaan DMSO:ssa olevasta liuoksesta, seoslasin ulkonäkö on erilainen. Tässä tapauksessa lasi on läpinäkyvämpää ja mikroskooppisen tarkastelun yhteydessä epäjatkuva trehaloosifaasi esiintyy kahdessa muodossa. Yhtenä muotona on erittäin hieno dispersio, jonka kauttaaltaan jatkuvaan matriisiin yhtenäisesti hajaantuneet erittäin pienet trehaloosihiukkaset muodostavat. Toinen muoto koostuu suuremmista pallomaisista trehaloosihelmistä, jotka ovat keskittyneet ryhmäksi seoslasin keskelle.

Haluamatta sitoutua mihinkään teoriaan näyttää todennäköiseltä, että havaitut erilaiset kuviot heijastavat eroja kahden hiilihydraatin liukenevuudessa käytössä olevissa liuoksissa, jolloin niiden erottuminen liuoksesta tapahtui liuottimen haihtumisen erilaisissa vaiheissa. Tämän selityksen eräs todiste löydettiin kokeiden yhteydessä, joita tehtiin seoslasien valmistamiseksi vastakkaisessa järjestelyssä, so. hydrofobisen vieraan aineen ollessa hienosti hajaantuneena hydrofiilisessa jatkuvassa matriisissa.

g) **HDC-lasien myrkyllisyys**

TOAC:in kyllästetty liuos ionittomassa tislatussa vedessä (0,42 g 20 millilitrassa) testattiin myrkyllisyyden suhteen koeolosuhteissa käyttäen afrikkalaisen apinan munuaisista saatua soluainetta (African Green monkey kidney-derived cell line Vero) joko 10-kertaisena sarjalaimennuksena tai lisäämällä TOAC-jauhetta suoraan kudosviljelyväliaineeseen. Mitään myrkyllisiä vaikutuksia ei havaittu viikon kestäneenä viljelyaikana ja solujakautuminen oli normaalia.

Vaikka esillä olevaa keksintöä on selostettu edellä yksityiskohtaisesti ja havainnollisesti kuvauksen ja esimerkkien avulla, niin alaan perehtyneille henkilöille on selvää, että siihen voidaan määrättyjä muutoksia ja muunnelmia. Siten edellä

olevan selostuksen ja esimerkkien ei olisi katsottava rajoittavan keksinnön suojapiiriä, jonka oheiset patenttivaatimukset määrittävät.

Patenttivaatimukset

1. Inhalaatiolla antoon soveltuva hiukkasmainen koostumus terapeuttiseen käyttöön, t u n n e t t u siitä, että hiukkaset koostuvat kiinteästä liuoksesta, joka käsittää terapeuttista ainetta ja lasia muodostavaa hiilihydraattia, joka kykenee stabiloimaan terapeuttista ainetta sumutuskuivauksen ja varastoinnin aikana, jolloin hiukkaset edelleen käsittävät fysiologisesti hyväksyttävää karboksylaatti-, nitraatti-, sulfaatti- tai bisulfaattilasia ja hiilihydraatti on valittu disakkaridien, trisakkaridien ja oligosakkaridien, niiden vastaavien sokerialkoholien, polysakkaridien ja kemiallisesti muunneltujen hiilihydraattien joukosta.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiilihydraatti on sokerialkoholien ja muiden suoraketjuisten polyalkoholien joukosta valitun polyhydroksiyhdisteen ei-pelkistävä glykosidi.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiilihydraatti on trehaloosi, maltoosi, laktoosi, maltuloosi, isomaltuloosi, laktuloosi, raffinoosi, stakyoosi, meletsitoosi, dekstraani, maltitoli, laktitoli, α-D-glukopyranosyyli-1→6-sorbitoli, α-D-glukopyranosyyli-1→6-mannitoli tai palatiniitti.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiilihydraatti on trehaloosi.

5. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiukkaset ovat kooltaan 0,1 – 10 μm

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiukkaset ovat kooltaan 1 – 4 μm.

7. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että terapeuttinen aine on proteiini tai peptidi, nukleotidi, oligonukleotidi tai nukleiinihappo.

8. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 – 6 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että terapeuttinen aine on entsyymi, kasvuhormoni, kasvutekijä, monoklonaalinen vasta-aine, interferoni, interleukiini tai sytokiini.

9. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 – 6 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että terapeuttinen aine on syklosporiini A, estrogeeni, progesteroni, testosteroni, estradioli, SH-135 tai tamoksifeeni.

10. Patenttivaatimuksen 7 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että terapeuttinen aine on insuliini.

11. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiukkaset edelleen käsittävät Maillardin reaktion inhibiittoria.

12. Minkä tahansa edellä olevan patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että hiukkaset edelleen käsittävät molekyylivesipumppupuskuria.

13. Väline terapeuttisen aineen antoon keuhkojen kautta, t u n n e t t u siitä, että väline sisältää missä tahansa patenttivaatimuksessa 1 – 12 määriteltyjä hiukkasia.

14. Menetelmä minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 – 12 mukaisten hiukkasten valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että menetelmä käsittää vaiheet, joissa lasia muodostava hiilihydraatti sulatetaan, terapeuttinen aine sisällytetään siihen, jolloin sulan lämpötila on riittävä hiilihydraatin fluidisoimiseksi, mutta riittämätön

terapeuttisen aineen inaktivoimiseksi olennaisesti, sula jäähdytyskarkaistaan ja jäähdytyskarkaistu tuote jauhetaan.

15. Menetelmä minkä tahansa patenttivaatimuksen 1 – 12 mukaisten hiukkasten valmistamiseksi, t u n n e t t u siitä, että menetelmä käsittää vaiheet, joissa hiilihydraatti ja terapeuttinen aine liuotetaan liuottimeen ja saatu liuos kuivataan hiukkasten muodostamiseksi.

16. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kuivaaminen käsittää sumutuskuivaamisen.

17. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kuivaaminen käsittää ylikriittisen fluidin haihduttamisen.

Patentkrav

1. Partikelformig sammansättning som passar för administration via inhalering för terapeutisk användning, k ä n n e t e c k n a d därav, partiklarna består av en fast lösning som innefattar terapeutiskt ämne och kolhydrat som har förmåga att bilda glas som kan stabilisera terapeutiskt ämnet under spraytorkning och lagring, varvid partiklarna vidare innefattar fysiologiskt acceptabelt karboxylat-, nitrat-, sulfat- eller bisulfatglas och kolhydraten är vald från en grupp som består av disackarider, trisackarider och oligosackarider, deras motsvarande sockeralkoholer, polysackarider och kemiskt modifierade kolhydrater.

2. Sammansättning enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att kolhydraten är ej-reducerande glykosid av polyhydroxiförening, som är valda från sockeralkoholer och andra rakkedjade polyalkoholer.

3. Sammansättning enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att kolhydraten är trehalos, maltos, laktos, maltulos, isomaltulos, laktulos, raffinos, stakyos, melezitos, dextran, maltitol, laktitol, α-D-glukopyranosyl-1→6-sorbitol, α-D-glukopyranosyl-1→6-mannitol eller palatinit.

4. Sammansättning enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a d därav, att kolhydraten är trehalos.

5. Sammansättning enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a d därav, att partiklar är av dimension 0,1-10 μm.

6. Sammansättning enligt av patentkrav 5, k ä n n e t e c k n a d därav, att partiklar är av dimension 1-4 μm.

7. Sammansättning enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a d därav, att terapeutiskt ämne är protein eller peptid, nukleotid, oligonukleotid

eller nukleinsyra.

8. Sammansättning enligt något av patentkraven 1-6, k ä n n e t e c k n a d därav, att terapeutiskt ämne är enzym, tillväxthormon, tillväxtfaktor, monoklonal antikropp, interferon, interleukin eller cytokin.

9. Sammansättning enligt något av patentkraven 1-6, k ä n n e t e c k n a d därav, att terapeutiskt ämne är cyclosporin A, estrogen, progesteron, testosteron, östradiol, SH-135 eller tamoxifen.

10. Sammansättning enligt patentkrav 7, k ä n n e t e c k n a d därav, att terapeutiskt ämne är insulin.

11. Sammansättning enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a d därav, att partiklar ytterligare omfattar inhibitor av Maillard-reaktionen.

12. Sammansättning enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a d därav, att partiklar ytterligare omfattar molekylvattenpumpbuffert.

13. Medel för administration av terapeutiskt ämne via lungor, k ä n n e t e c k n a d därav, att medel innehåller partiklar enligt något av patentkraven 1-12.

14. Förfarande för framställning av partiklar enligt något av patentkraven 1-12, k ä n n e t e c k n a d därav, att förfarandet innefattar steg: smältning av kolhydrat som bildas glas, inkludering av terapeutiskt ämne, varvid smälttemperaturen räcker till att fluidisera kolhydraten men är otillräcklig att väsentligen inaktivera terapeutiskt ämnet, släckhärdning av smältan och krossning av släckhärda produkten.

15. Förfarande för framställning av partiklar enligt något av patentkraven 1-12, k ä n n e t e c k n a d därav, att förfarandet innefattar steg, där kolhydrat och

terapeutiskt ämne är upplöst i ett lösningsmedel och lösningen är torkad för att forma partiklar.

16. Förfarande enligt patentkrav 15 k ä n n e t e c k n a t därav, att torkningen omfattar spraytorkning.

17. Förfarande enligt patentkrav 15 k ä n n e t e c k n a t därav, att torkningen omfattar avdunstning av superkritisk fluid.

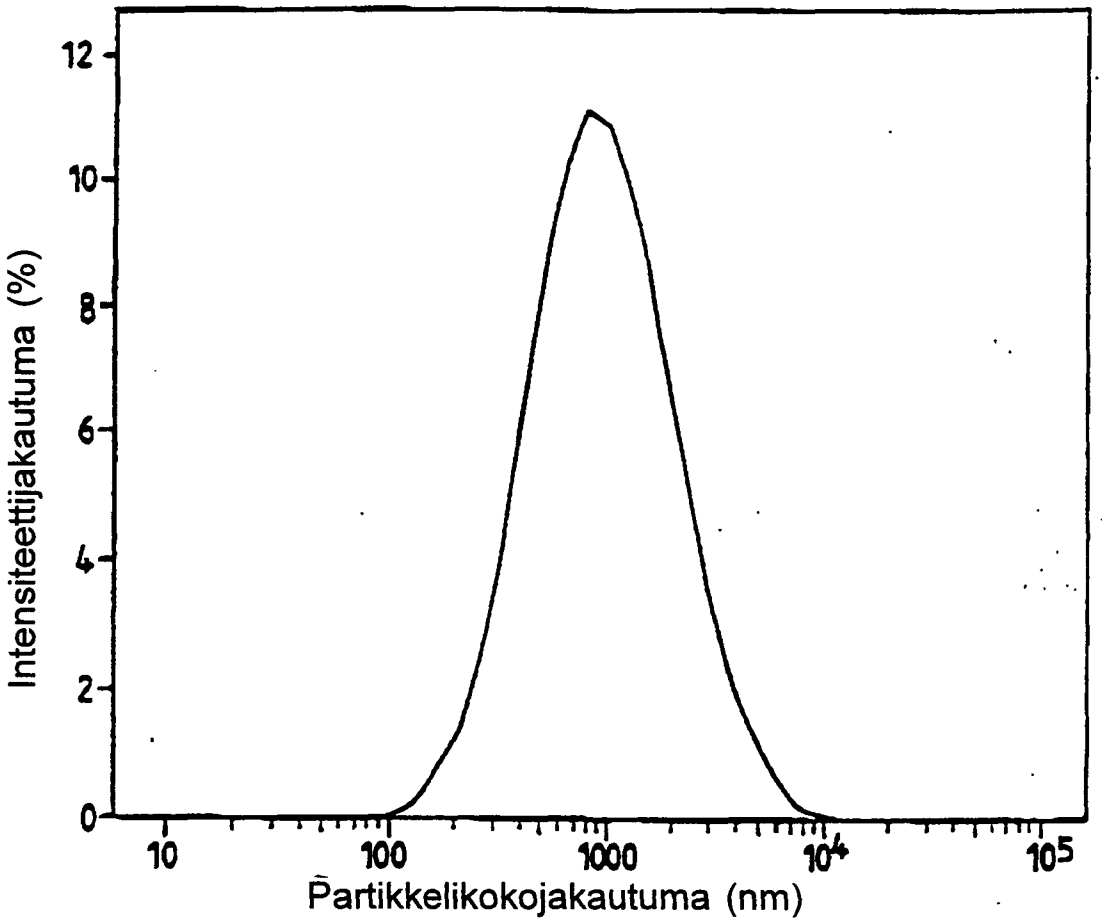

Intensiteettijakautuma (%)
0
2
4
6
8
10
12
10
100
1000
10^4
10^5
Partikkelikokojakautuma (nm)

FIG.1

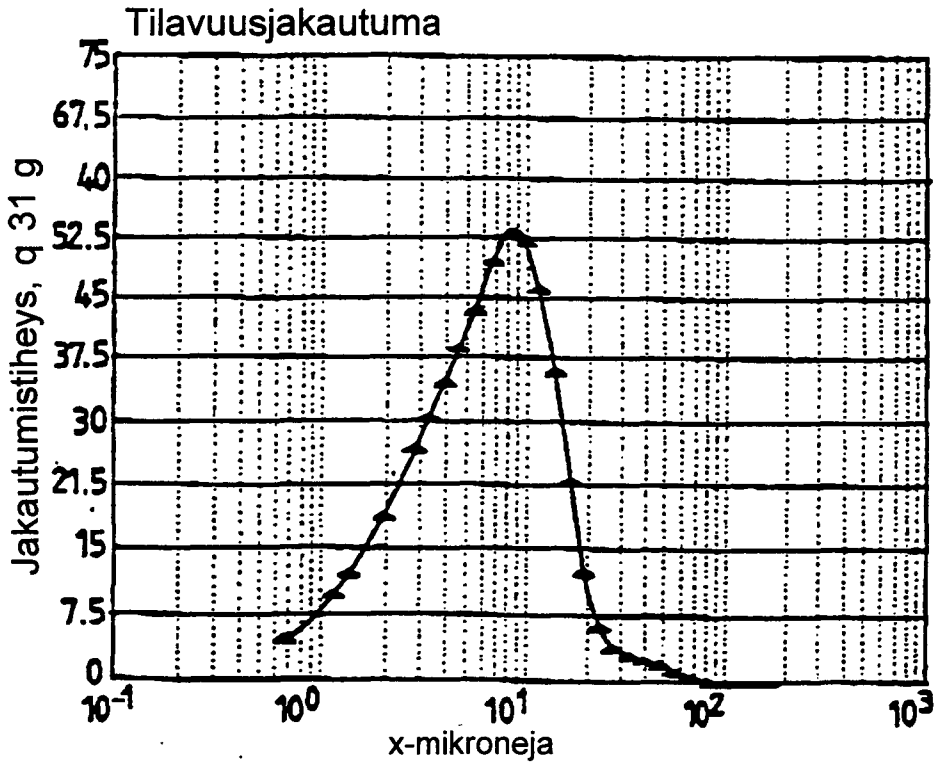

Tilavuusjakautuma
Jakautumistiheys, q 31 g
0
7.5
15
21.5
30
37.5
45
52.5
40
67.5
75
10^-1
10^0
10^1
10^2
10^3
x-mikroneja

FIG.2A

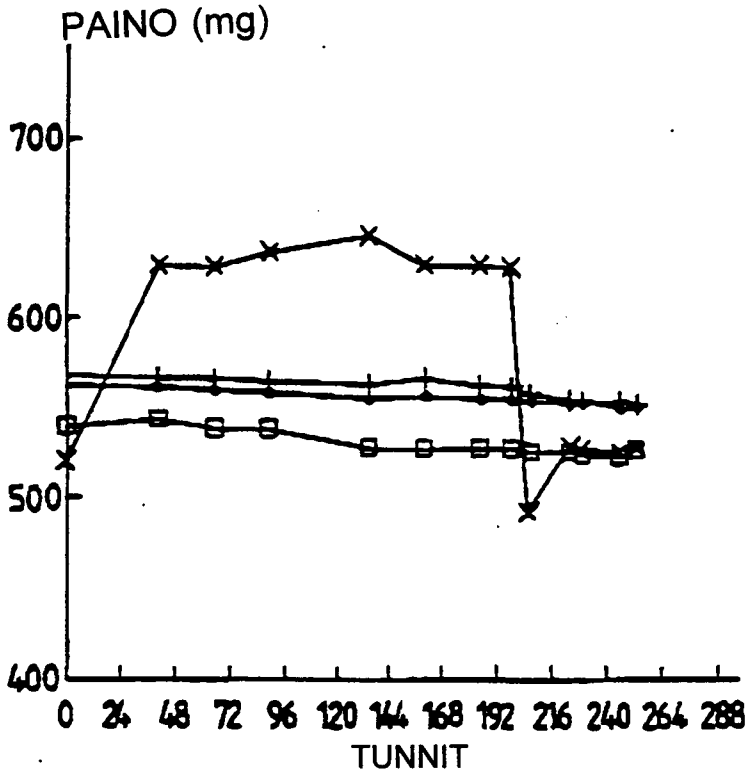

PAINO (mg)
700
600
500
400
0 24 48 72 96 120 144 168 192 216 240 264 288
TUNNIT

FIG.2B

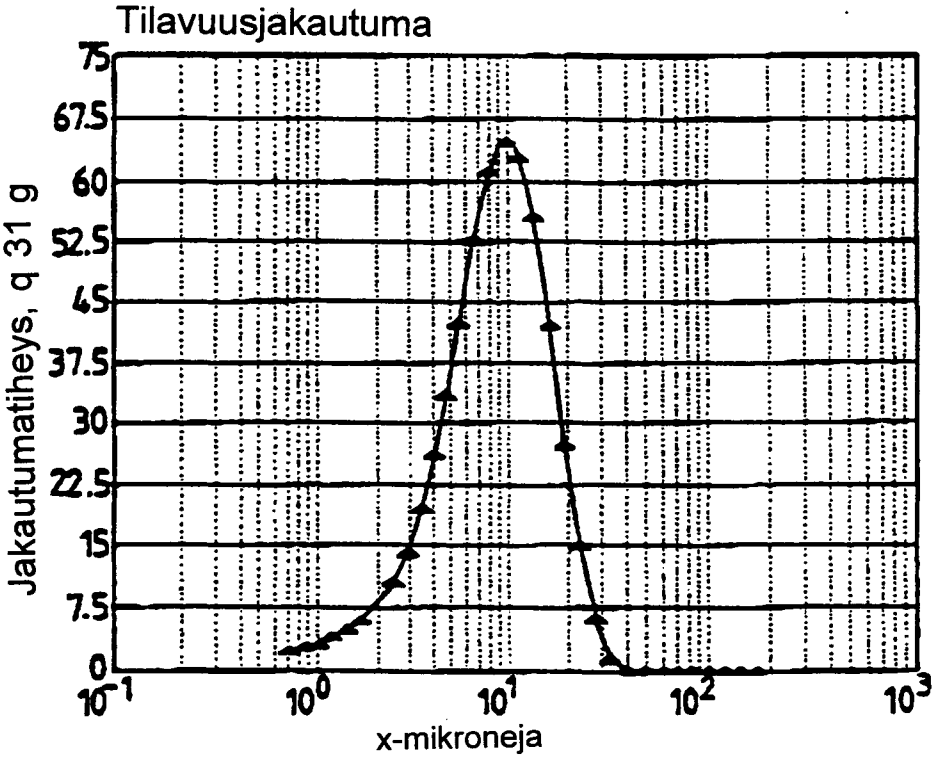

Tilavuusjakautuma
Jakautumatiheys, q 31 g
75
67.5
60
52.5
45
37.5
30
22.5
15
7.5
0
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
x-mikroneja

FIG.3

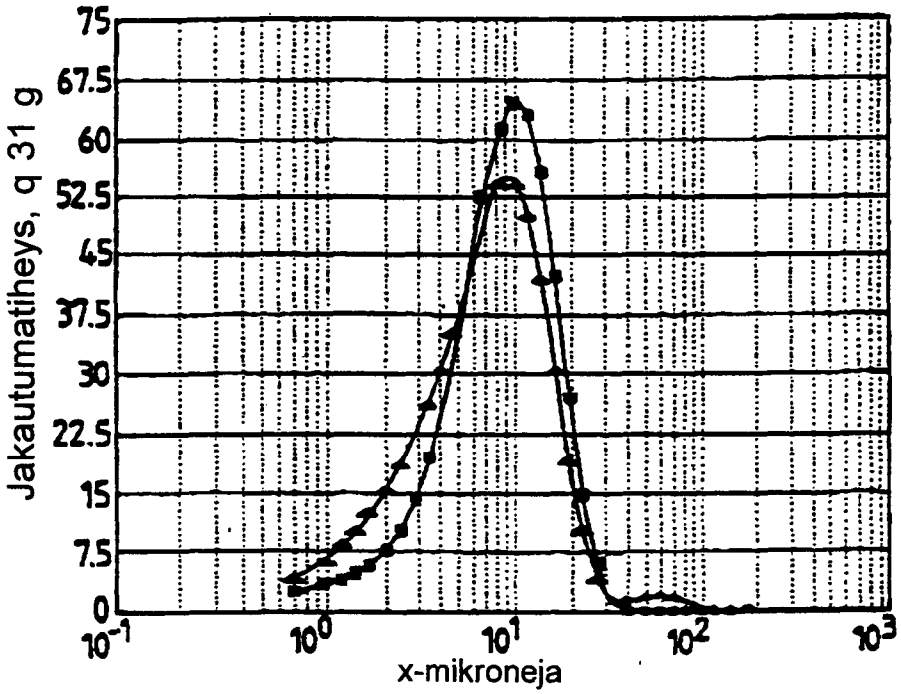

Jakautumatiheys, q 31 g
75
67.5
60
52.5
45
37.5
30
22.5
15
7.5
0
10^{-1}
10^{0}
10^{1}
10^{2}
10^{3}
x-mikroneja

FIG.4

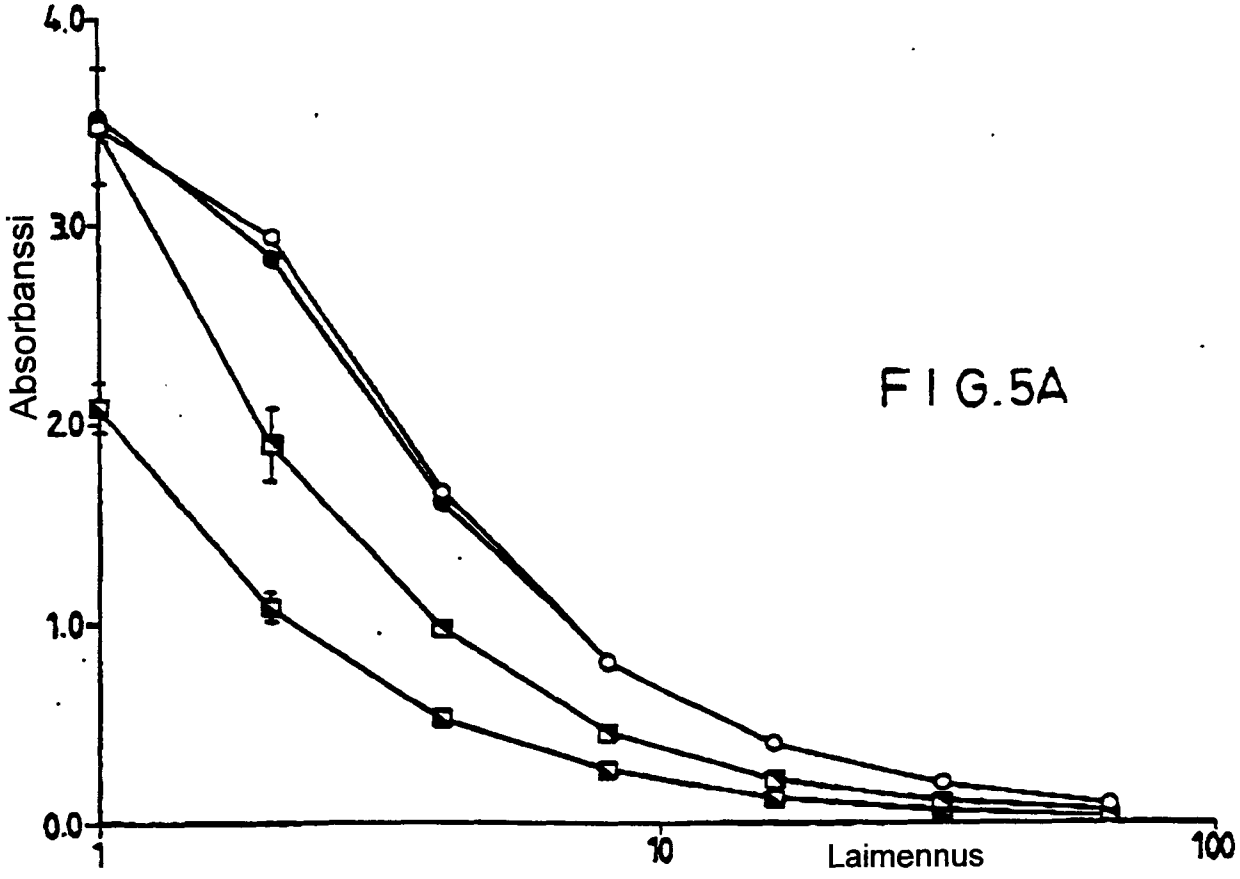

Absorbanssi
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
1
10
100
Laimennus

FIG.5A

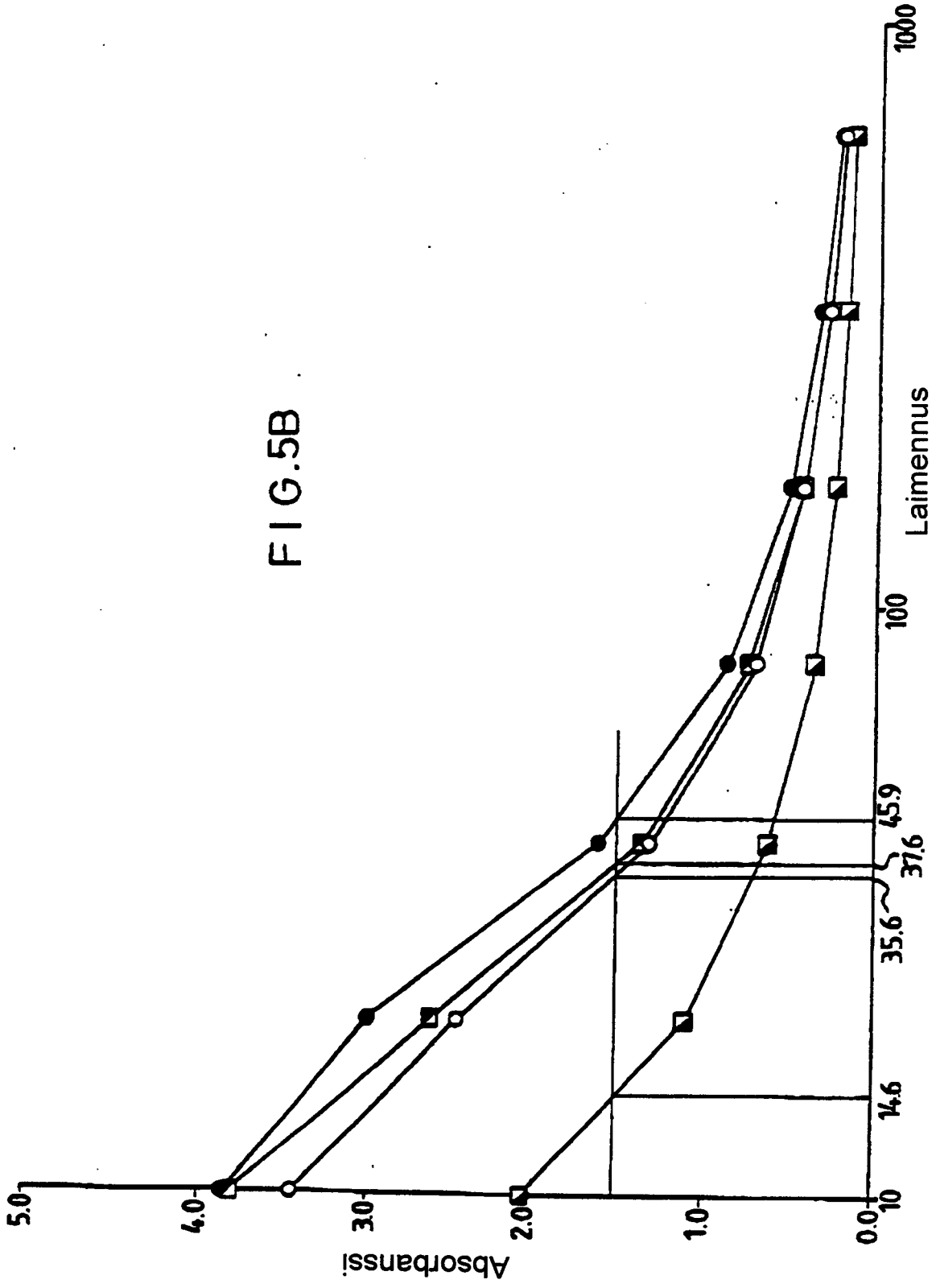

Absorbanssi
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
10
14.6
35.6
37.6
45.9
100
1000
Laimennus

FIG.5B

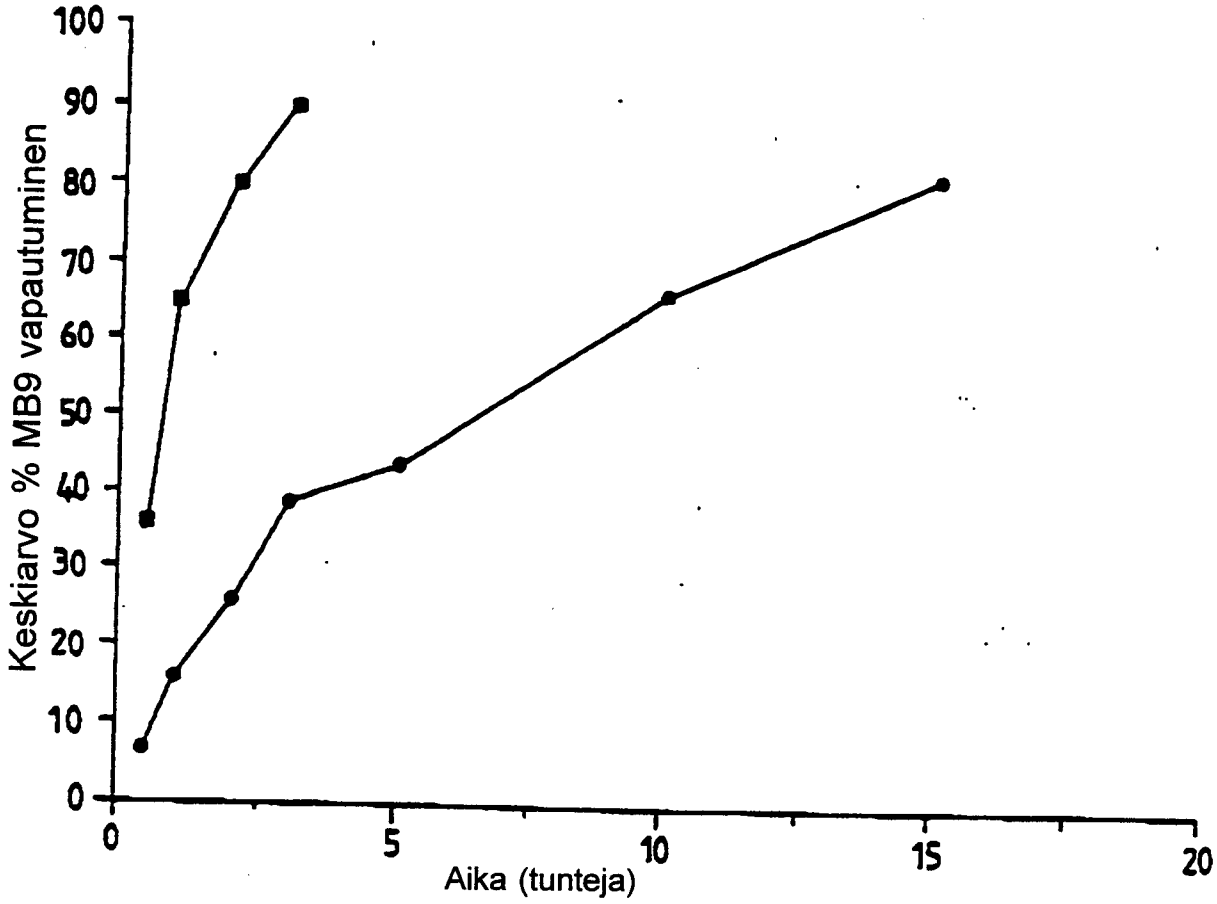

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
Aika (tunteja)

FIG.6

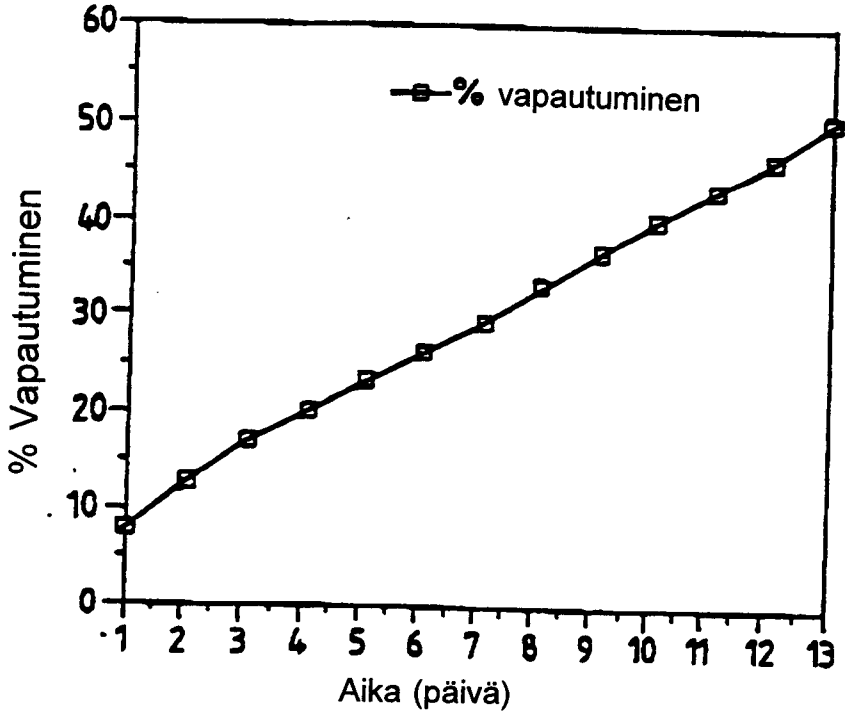

% vapautuminen
% Vapautuminen
60
50
40
30
20
10
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
Aika (päivä)

FIG.7

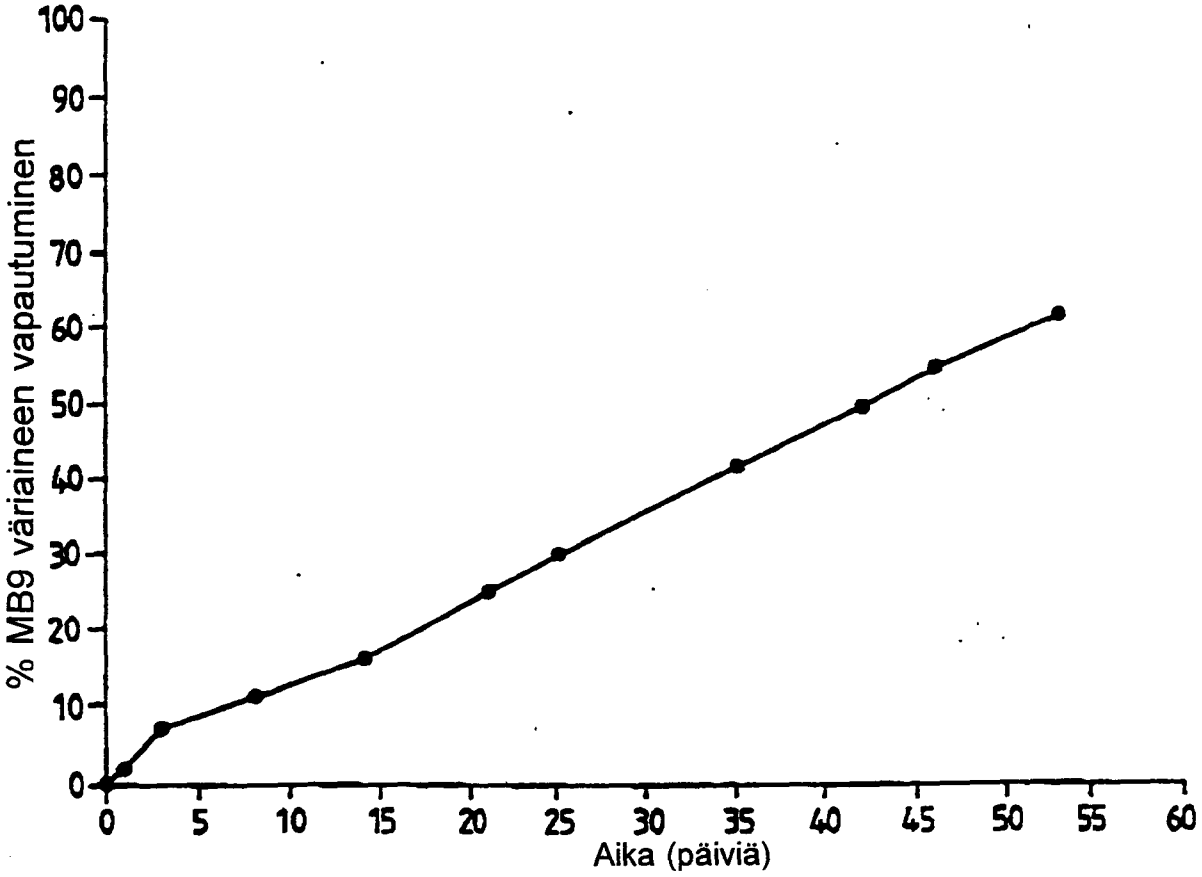

% MB9 väriaineen vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
Aika (päiviä)

FIG.8

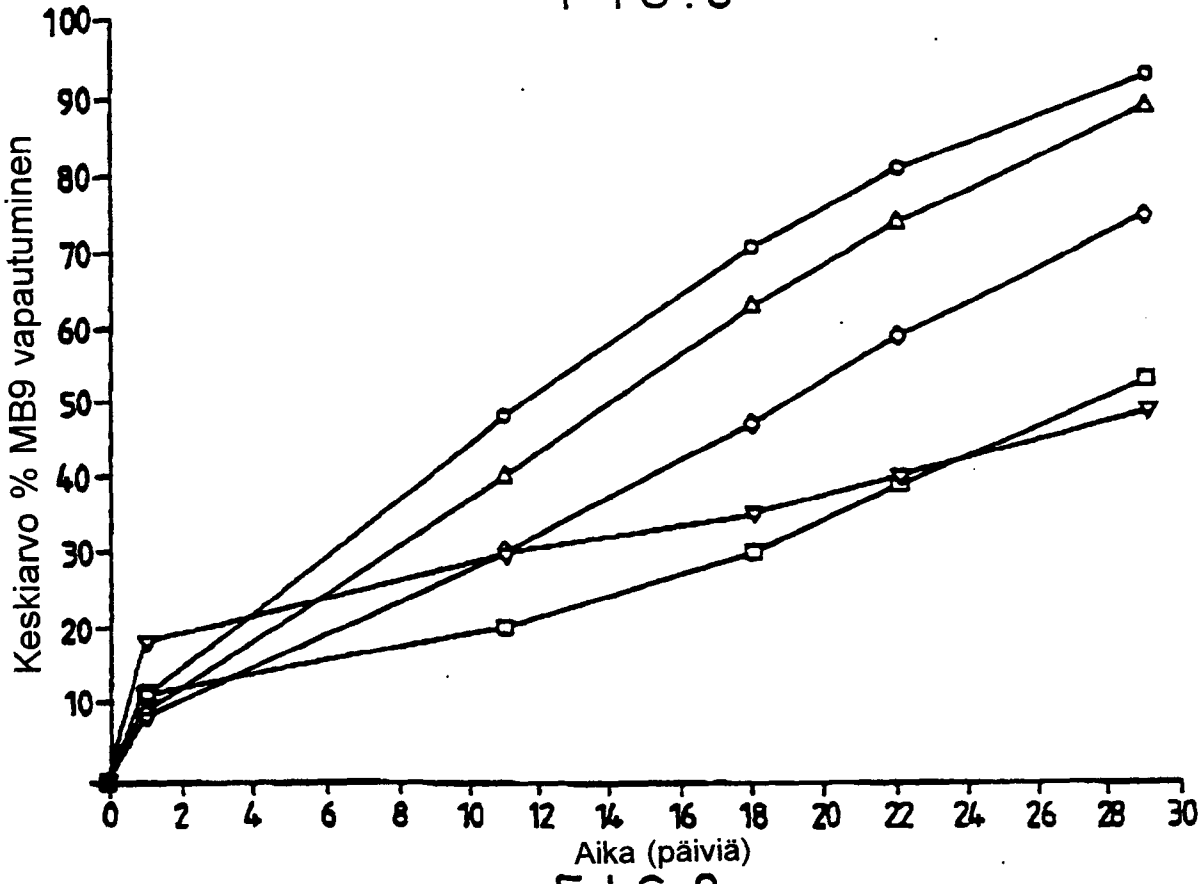

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
Aika (päiviä)

FIG.9

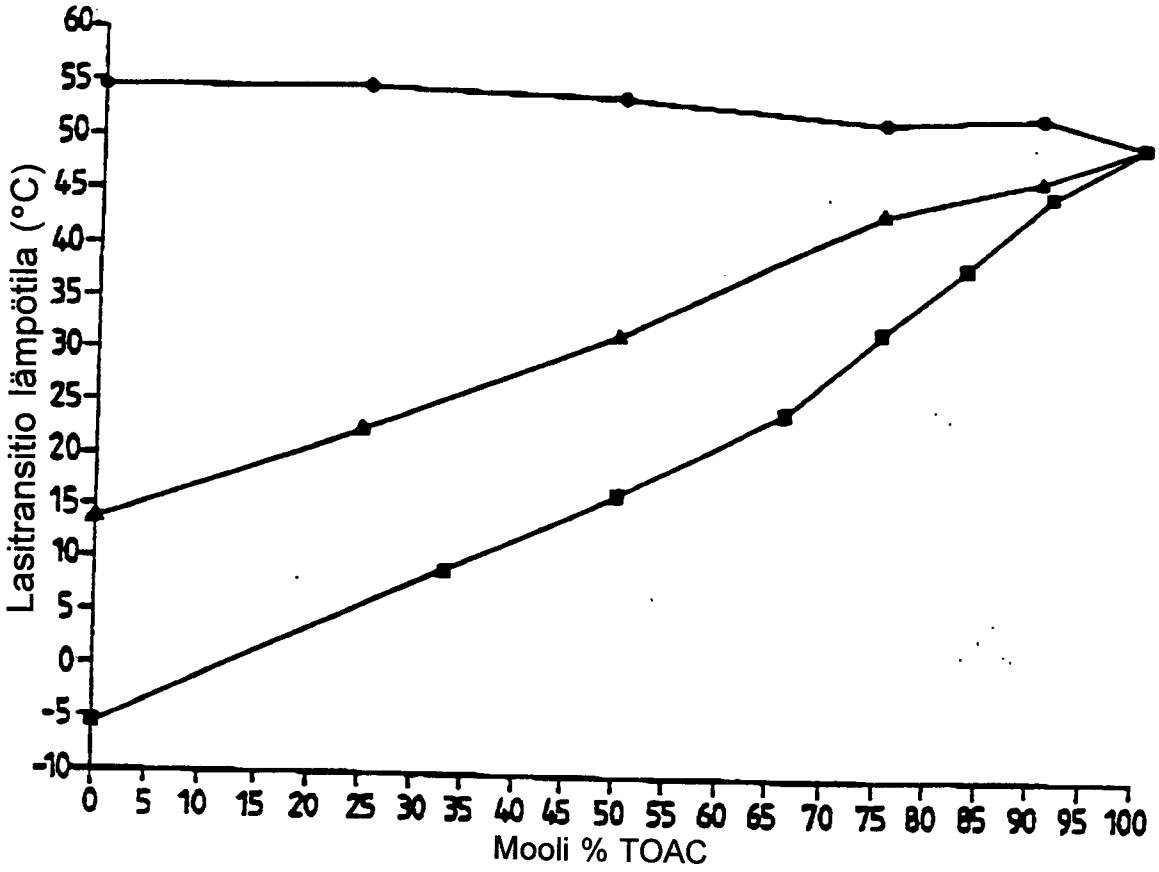

Lasitransitio lämpötila (°C)
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
-5
-10
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100
Mooli % TOAC

FIG.10

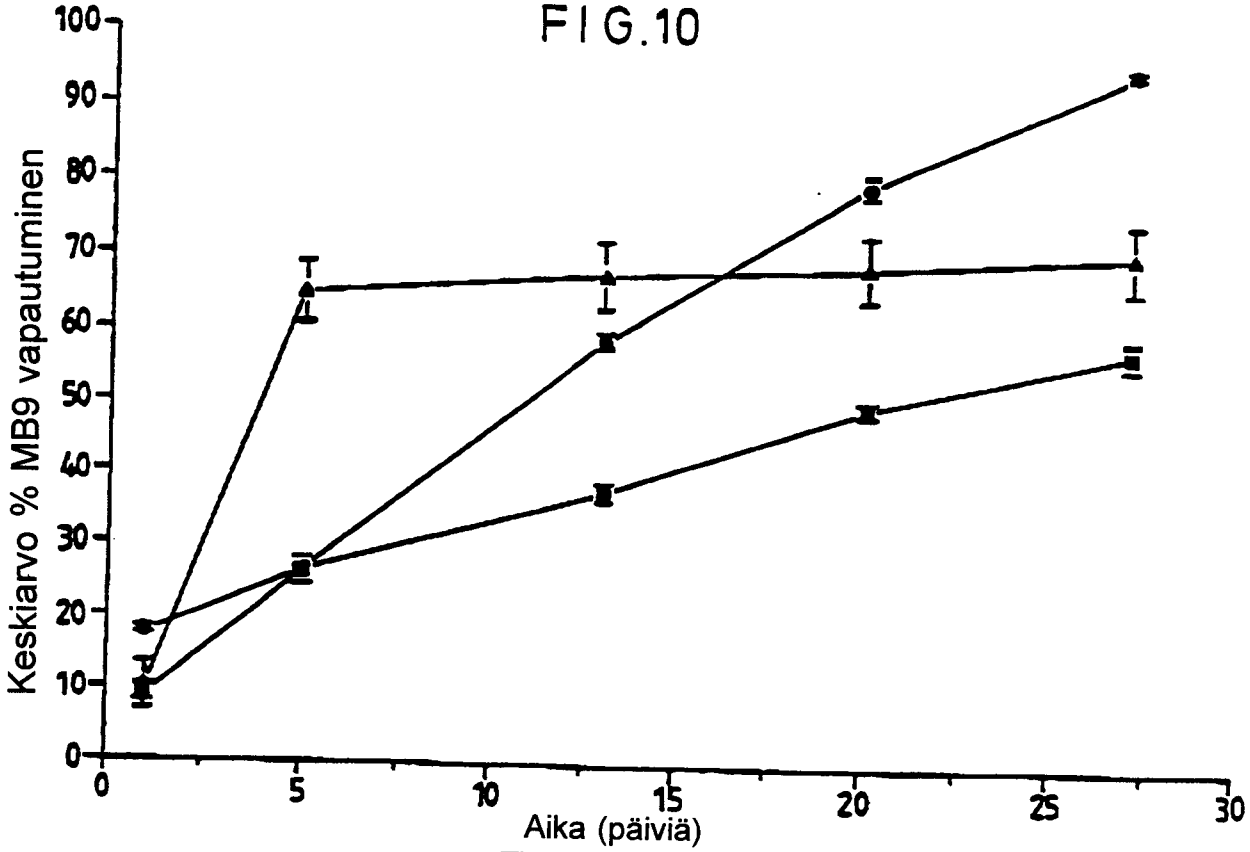

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0 5 10 15 20 25 30
Aika (päiviä)

FIG.11

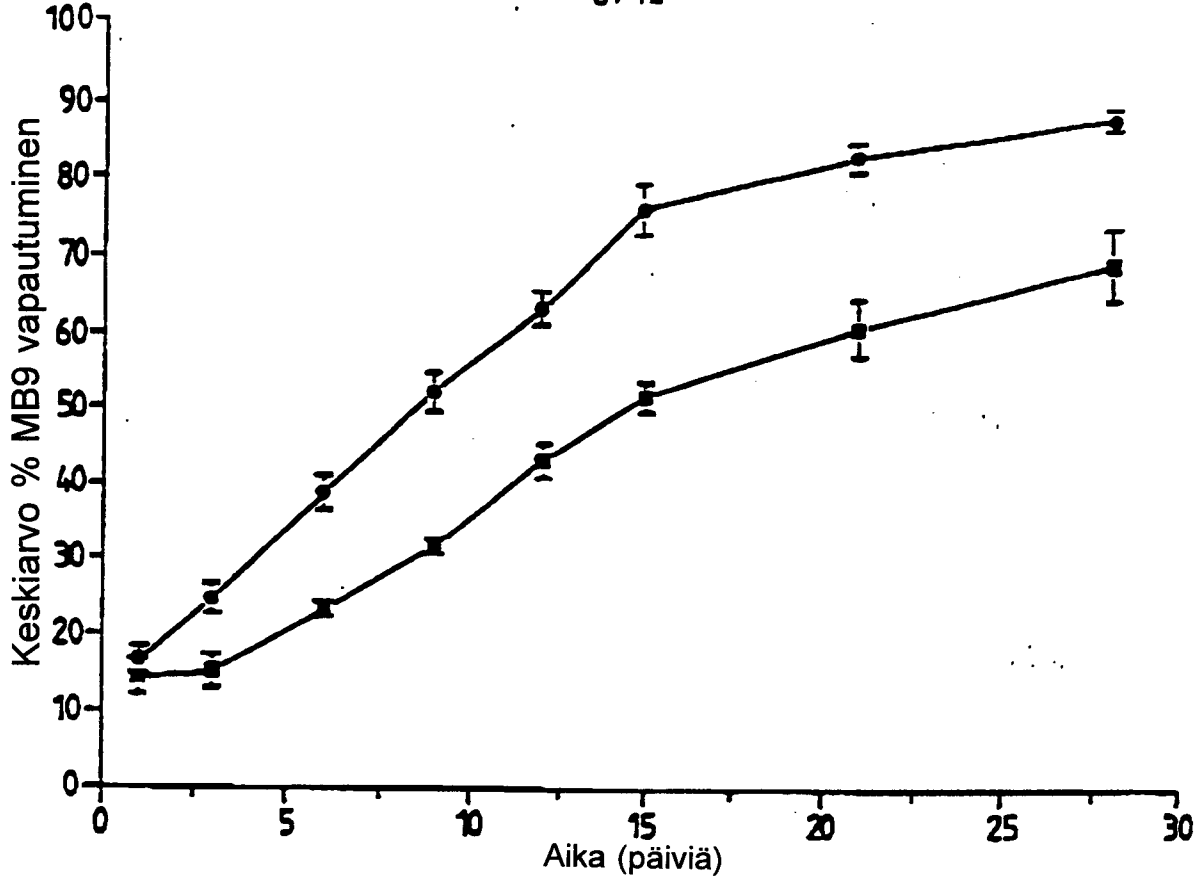

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
Aika (päiviä)

FIG.12

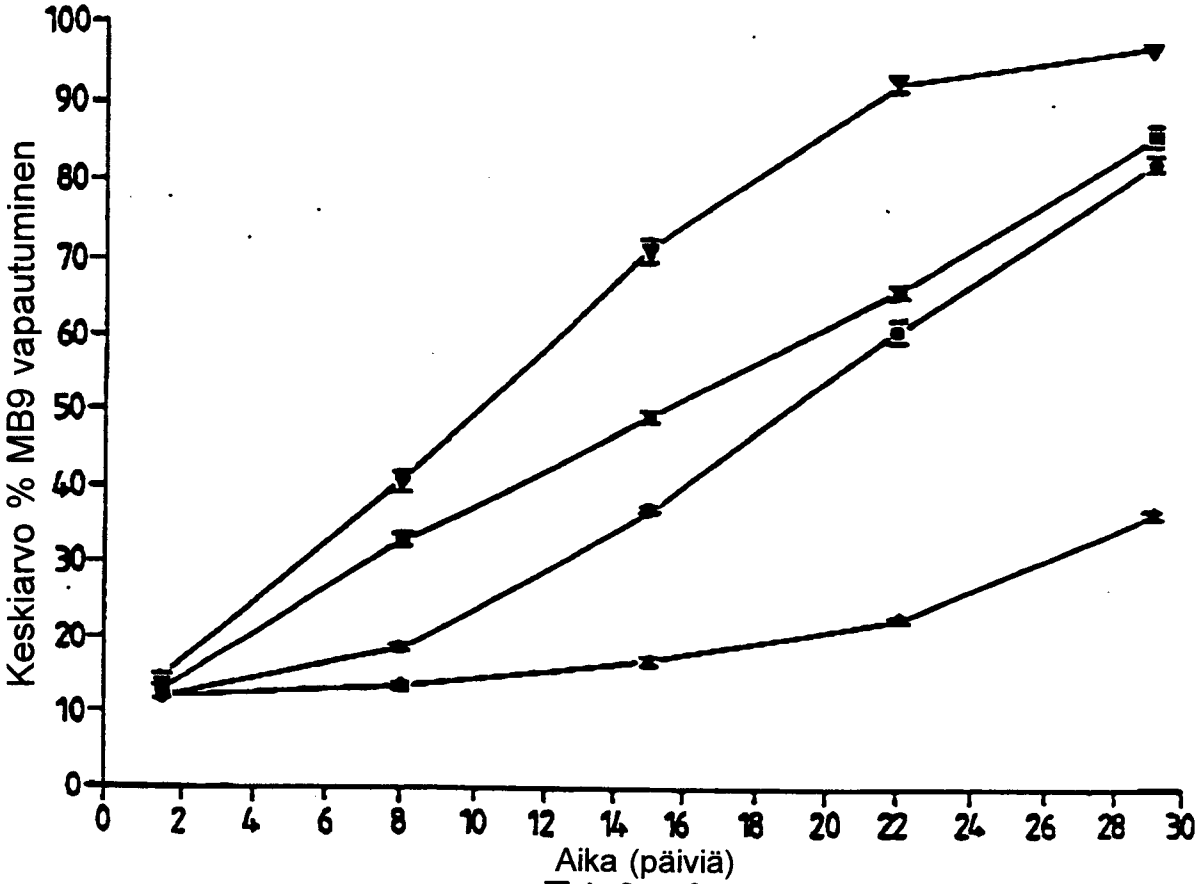

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
Aika (päiviä)

FIG.13

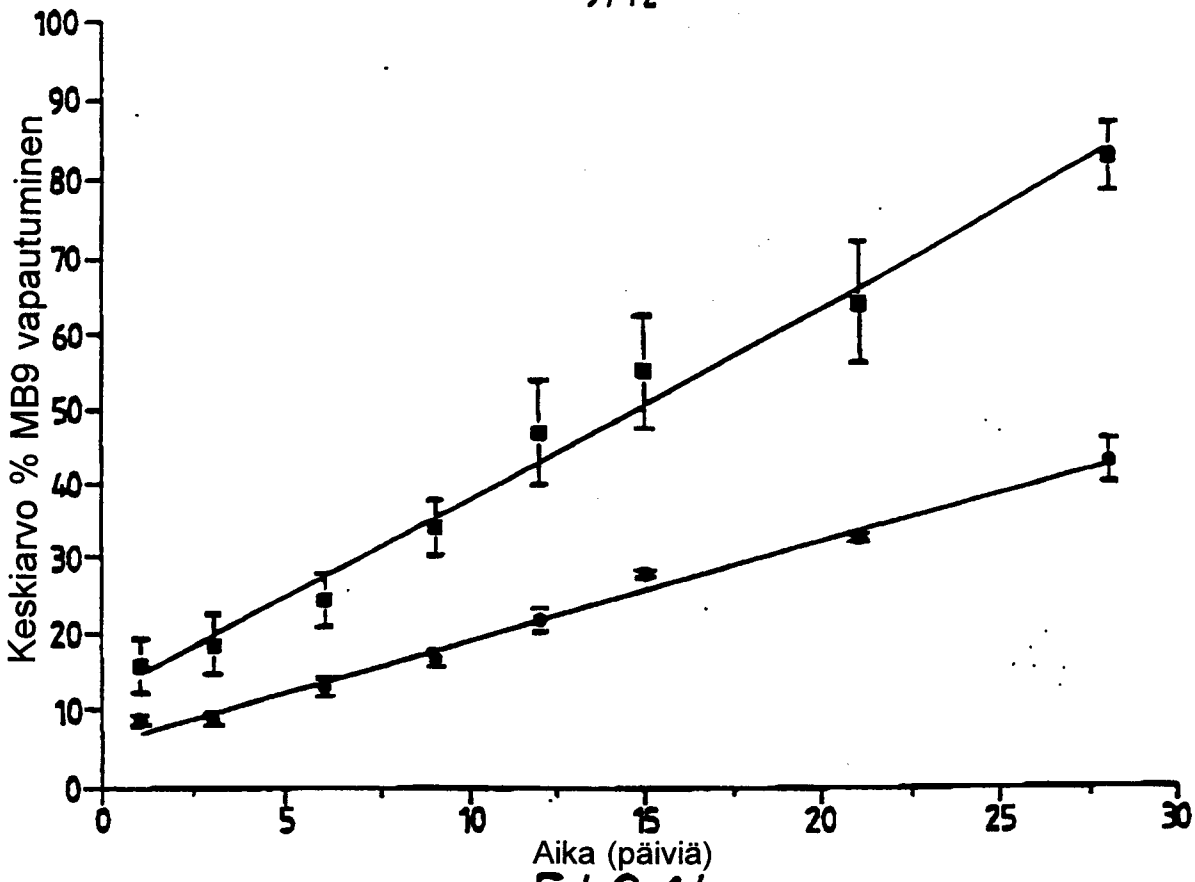

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
Aika (päiviä)

FIG.14

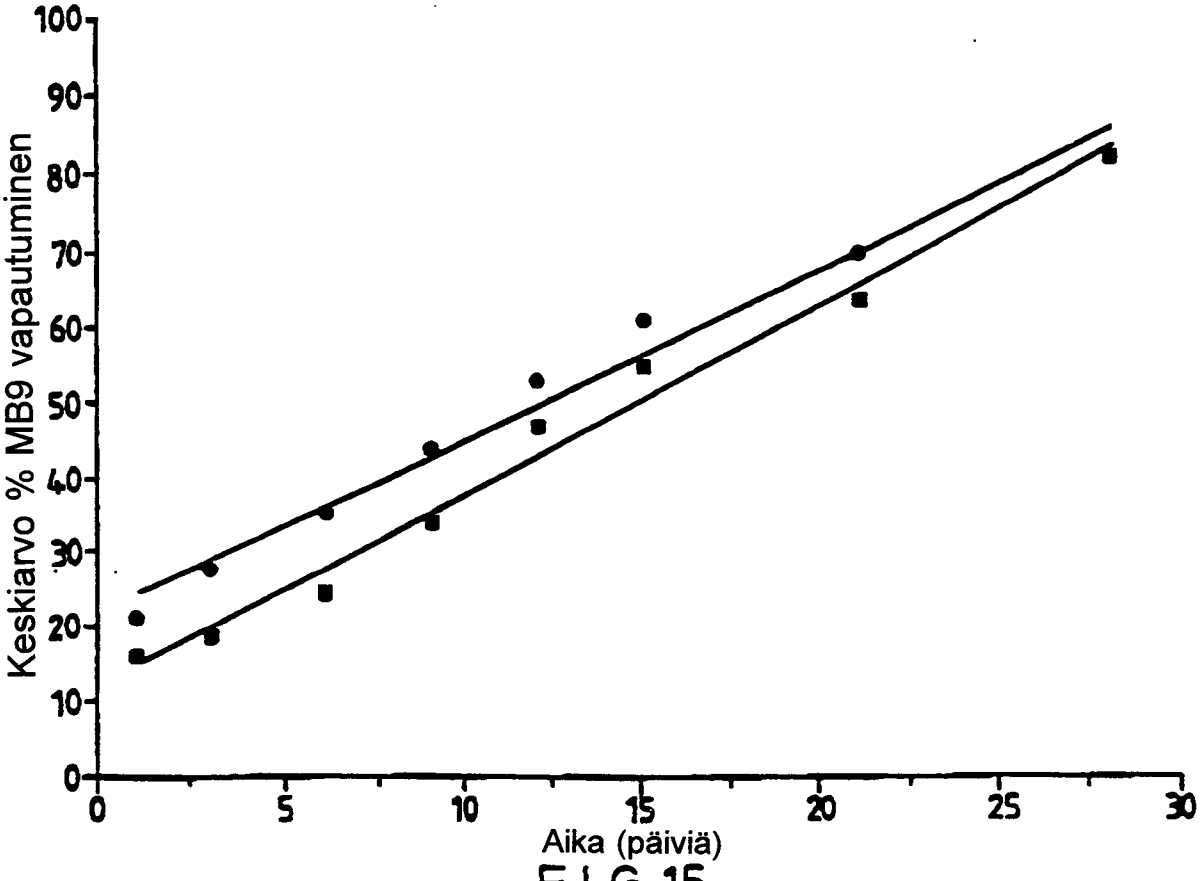

Keskiarvo % MB9 vapautuminen
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
Aika (päiviä)

FIG.15

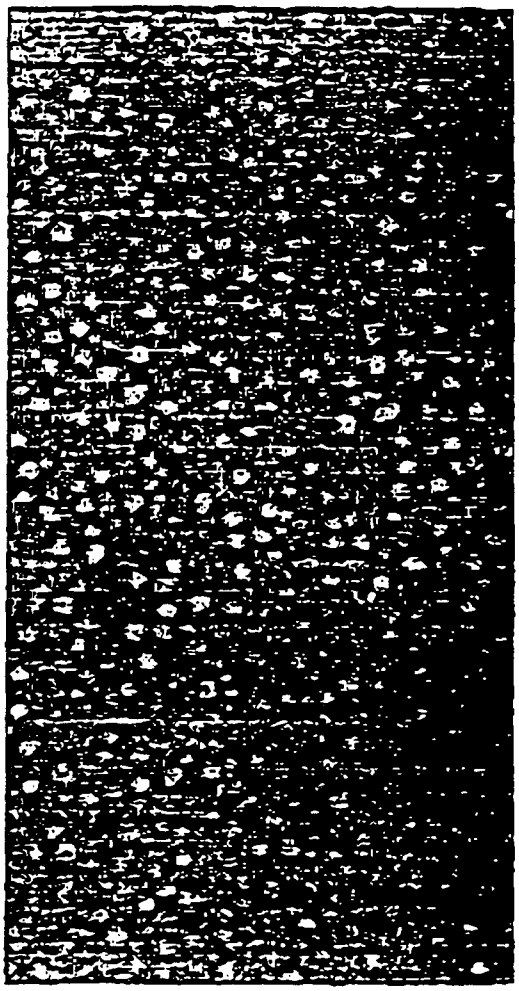


FIG. 16

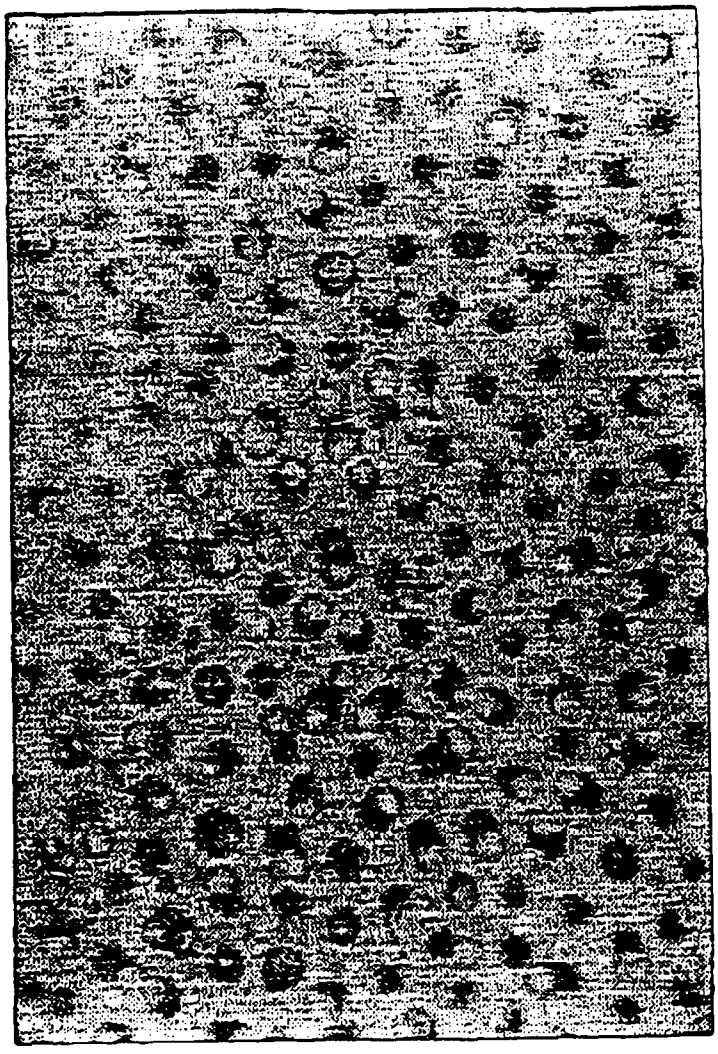


FIG.17

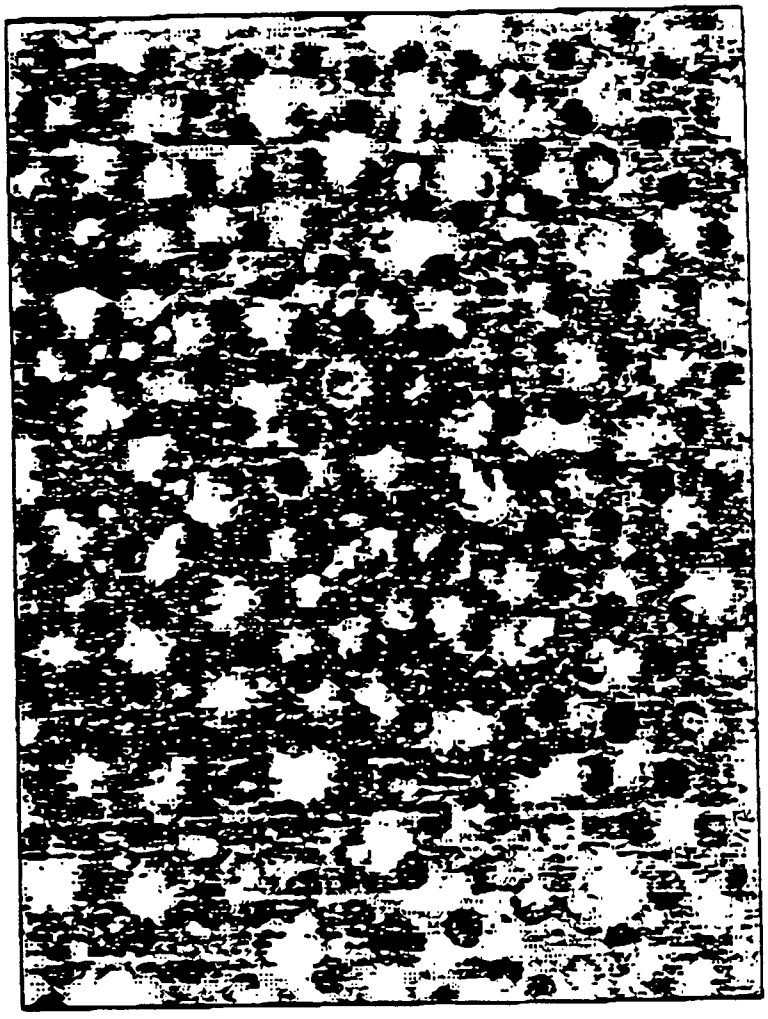


FIG 18