

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

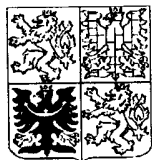
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2184-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09. 07. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **28.08.96, 12.06.97**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/19634752, 97/19724845**

(33) Země priority: **DE, DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **18. 03. 98**
(Věstník č. 3/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 38/54

(71) Přihlášovatel:

SOLVAY PHARMACEUTICALS GMBH,
Hannover, DE;

(72) Původce:

Galle Manfred, Isernhagen, DE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273,
Praha 4, 14021;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Použití komplexních lipidů jako stabilizujících přísad pro farmaceutické přípravky směsí zaživacích enzymů

(57) Anotace:

Je popsáno použití komplexních lipidů, zejména lecithinu, proti vlivem vlhkosti způsobovanému poklesu lipolytické aktivity ve vodných farmaceutických přípravcích z lipasy a proteasy obsahujících směsí zaživacích enzymů, zejména z pankreatin obsahujících směsí zaživacích enzymů, které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sond.

CZ 2184-97 A3

2184-97

PRIL.
VLASTNOSTI
PROBYS
URAD
25. VII. 97
DOSTO

Použití komplexních lipidů jako stabilizujících přísad pro farmaceutické přípravky směsí zažívacích enzymů

Oblast techniky

Předložený vynález se týká použití komplexních lipidů jako stabilizujících přísad proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity ve vodě rozpustných farmaceutických přípravků směsí zažívacích enzymů, kteréžto přípravky obsahují proteaso/lipasové směsi, zejména pankreatin a které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sond. Dále se vynález týká ve vodě rozpustných farmaceutických přípravků z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, které jsou stabilizované komplexními lipidy proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity a které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků, zaváditelných do gastrointestinálního traktu savců nebo lidí pomocí sond.

Dosavadní stav techniky

U savců, zejména lidí, může nastat nedostatek zažívacích enzymů například vyvoláním chorobnými změnami pankreatu na základě chronické pankreatidy, zažívací nedostatečnosti po operacích žaludku, onemocněních jater nebo žlučníku. Je již známo, že takovéto nedostatkové jevy je možno léčit podáváním pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, který nejsou tělu vlastní, např. pankreasových enzymů, zejména pankreatinu, které případně ještě mohou obsahovat lipasové přísady. Pankreasové enzymy se obvykle podávají orálně ve formě pevných přípravků. Aby se při orálním podávání podané směsi enzymů nežádoucím způsobem nevratně neznehodnotily již v žaludku tam přítomnými žaludečními kyselinami a proteolytickými enzymy jako je pepsin, je třeba směsi enzymů opatřit povlakem, který je odolný vůči žaludečním šťávám. Takovýto povlak umožňuje průchod intaktních směsí enzymů žaludkem až do místa jejich působení.

do dvanácterníku, kde se tam panujícími neutrálními až lehce alkalickými podmínkami enzymy uvolní. Tak jako tělu vlastní pankreasové enzymy zdravého člověka, mohou i orálně podané enzymy projevit svůj enzymatický účinek, zejména amylolytickou, lipolytickou a proteolytickou aktivitu.

Takovéto, proti žaludečním šťávám odolným filmem potažitelné, pevné pankreatinové formulace ve formě mikropilulek, popisuje např. dokument DOS 42 27 385.4.

Pro pacienty se zažívací nedostatečností, zejména pro pacienty upoutané na lůžko s déle trvající zažívací nedostatečností jako například chronickou nedostatečností pankreatu, by bylo žádoucí místo pevných podávacích forem podávat tělu nevlastní zažívací enzymy i po delší dobu v tekuté formě, například kontinuální aplikací pomocí sondy.

Kapalné podávací formy pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména penkreatinu, nebyly dosud dány k dispozici, neboť kapalné vodné přípravky takovýchto enzymových směsí nejsou dlouhodobě stabilní. Ukazuje se, že zejména aktivita ve směsi obsažených lipas v přítomnosti vody rychle klesá následkem proteolytického napadení ve směsi rovněž obsažených proteas jako je trypsin nebo chymotrypsin. Tak může, v závislost na vnějších podmínkách (teplotě, hodnotě pH), ve vodných pankreatinových přípravcích během krátké doby dojít k dalekosáhlé ztrátě lipasové aktivity.

Podstata vynálezu

Aby byly vhodné pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu aplikací pomocí sondy, musí vodné roztoky lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, být stabilní po dobu několika hodin, například 8 hodin. Zejména v roztocích nesmějí vznikat nebo být obsaženy žádné částičky, které ucpávají sondu. Podstatným požadavkem na takovéto roztoky je,

aby zůstala po celou dobu podávání zachována pokud možno vysoká a trvalá aktivity všech tam obsažených zažívacích enzymů. Dále je pro roztoky vhodné pro kontinuální gastrointestinální aplikaci nutné, aby byly k dispozici bez růstu zárodků, tedy například byly konzervované proti růstu zárodků, výhodně aby byly sterilní.

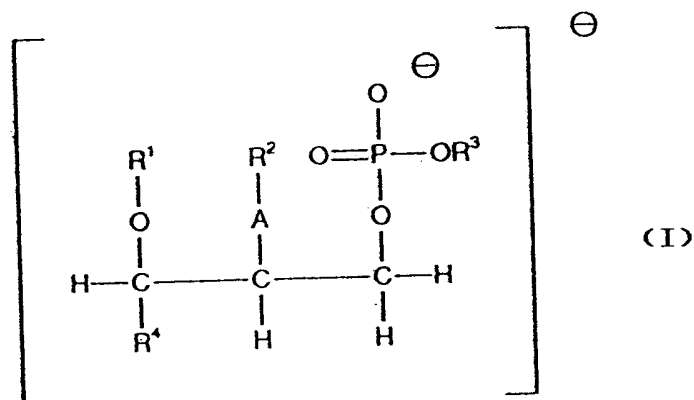
Úkolem vynálezu tedy bylo dát k dispozici proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity stabilizované, lipasy a proteasy obsahující, ve vodě rozpustné farmaceutické přípravky ze směsí zažívacích enzymů, které, rozpuštěny ve vodném médiu, zůstávají stabilní po delší dobu.

Předmětem vynálezu je použití komplexních lipidů jako stabilizujících přísad proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity ve vodě rozpustných farmaceutických přípravků z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sond. Předmětem vynálezu jsou dále takovéto stabilizované, ve vodě rozpustné farmaceutické přípravky ze směsí zažívacích enzymů. Rovněž předmětem vynálezu jsou soupravy pro přípravu pro kontinuální sondovou aplikaci vhodných vodných roztoků směsí zažívacích enzymů.

Komplexní lipidy, které jsou podle vynálezu vhodné jako stabilizační přísady, jsou zpravidla nerozpustné v acetonu. Patří k nim zejména fosfor obsahující a bezuhlohydrátové fosfolipidy, uhlohydráty obsahující a bezfosforové glykolipidy a jejich směsi. Účelně se používají jenom fosfolipidy nebo směsi s obsahem fosfolipidů a glykolipidů.

Jako fosfolipidy, které mohou být použity podle vynálezu jako stabilizační přísady k směsím zažívacích enzymů s obsahem lipas a proteas, zejména k pankreatin obsahujícím směsím

zažívacích enzymů, jsou zejména vhodné soli aniontů obecného vzorce I,



kde

- R¹ znamená vodík nebo alkanoylový zbytek s 10 až 25 uhlíkovými atomy, jehož uhlovodíkový zbytek může případně obsahovat 1 až 4 dvojně vazby,
- R² znamená vodík nebo alkanoylový zbytek s 10 až 25 uhlíkovými atomy, jehož uhlíkový zbytek může případně obsahovat 1 až 4 dvojně vazby, nebo, jestliže R¹ nezastupuje vodík, také může znamenat vodík,
- R³ znamená vodík, nižší alkylovou skupinu, která může být substituovaná skupinou amino, nižší trialkylamonio, karboxylovou skupinou, vázanou na uhlíkový atom nesoucí aminofunkci nebo hydroxy substituovanou cykloalkylskupinou,
- R⁴ znamená vodík nebo uhlovodíkový řetězec s 10 až 25 uhlíkovými atomy, který může případně obsahovat 1 až 4 dvojně vazby,
- A zastupuje kyslík nebo NH,

s fyziologicky snesitelným kationtem.

Jako fyziologicky snesitelné kationty jsou vhodné ionty amonné, kationty alkalického kovu nebo prvku alkalických zemin, výhodně sodíku, draslíku nebo vápníku, jakož i další fyziologicky snesitelné jedno- nebo vícemocné kationty. Pokud R³ obsahuje dusíkový atom, může tento tvořit kvarterní amonný

iont, který může rovněž sloužit jako kationt, takže se vytvoří na vnějšek nenabitě vnitřní soli.

Pokud ve sloučeninách obecného vzorce I zastupují R^1 a/nebo R^2 alkanoylové zbytky, tak tyto mohou mít řetězec nerozvětvený nebo rozvětvený, zpravidla je nerozvětvený a obsahuje 10 až 25, výhodně 16 až 20 uhlíkových atomů. Případně může alkanoylový zbytek obsahovat až 4 dvojně vazby. Jako alkanoylové zbytky se mohou vyskytovat zejména zbytky mastných kyselin s dlouhým řetězcem jako je kyselina nervonová, kyselina lignocerová, kyselina palmitová, kyselina palmitoleinová, kyselina stearová, kyselina olejová, kyselina linolová, kyselina linolenová, kyselina arachová nebo kyselina arachidonová.

Pokud je substituent R^3 nižší alkylová skupina nebo ji obsahuje, může mít řetězec nerozvětvený nebo rozvětvený a obsahovat zejména 1 až 4, výhodně 1 až 2 uhlíkové atomy. Pokud R^3 znamená skupinou hydroxy substituovanou cykloalkylovou skupinu, tak tato může obsahovat 3 až 6 uhlíkových atomů a být jedno- nebo vícenásobně substituována hydroxy. Výhodně obsahuje cykloalkylová skupina 5 až 6 uhlíkových atomů, které mohou být případně substituované hydroxy.

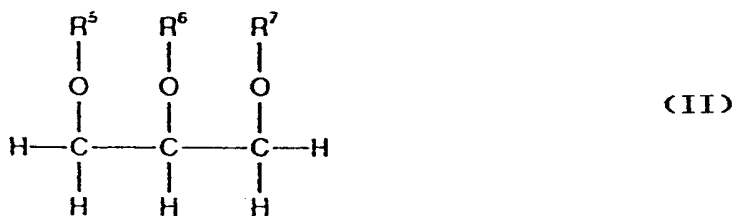
Zbytek R^3O představuje výhodně hydroxy nebo alkoxyzbytek, vzniklý esterifikací jedno- nebo vícemocného alkoholu fosfátovou skupinou, přičemž jedno- nebo vícemocný alkohol je vybraný ze skupiny, která se skládá z ethanolaminu, cholinu, serinu, glycerinu a myo-inositolu.

Pokud zbytek R^4 je uhlovodíkový řetězec, tak tento může být nerozvětvený nebo rozvětvený a zpravidla je nerozvětvený a obsahuje 10 až 25, výhodně 12 až 20, ještě výhodněji 15 uhlíkových atomů. Případně může uhlovodíkový řetězec obsahovat až 4, výhodně 2, ještě výhodněji 1 dvojnou vazbu.

Zbytek A může být kyslík nebo NH-skupina.

Výhodně přicházejí jako fosfolipidy v úvahu kyselina fosfatidová (kyselina 1,2.-diacyl-sn-glycerol-3-fosforečná), fosfatidylcholin (1,2-diacyl-sn-glycerol-3-fosforylcholin), fosfatidylethanolamin (1,2-diacyl-sn-glycerol-3-fosforyl-ethanolamin), fosfatidylserin (1,2-diacyl-sn-glycerol-3-fosforylserin) a fosfatidylinosit (1,2-diacyl-sn-glycerol-3-fosforylinosit) a v případě, že fosfolipidy jsou živočišného původu jako například slepičí vejce, tak také sfingomyelin, jakož i směsi těchto sloučenin. Řečené 1,2-diacylfosfolipidy mohou být za určitých podmínek, třeba enzymatickým vlivem fosfolipasy, částečně hydrolyzovány. Podle povahy fosfolipasy mohou být přitom zbytky R¹, R², R³ nebo také [R³OPO₂]⁻ 1,2-diacylfosfolipidu nahrazeny vodíkem. Jestliže nejméně jeden ze jmenovaných molekulových zbytků na fosfolipidové molekule je hydrolyzován, tak vzniknou takzvané lysofosfolipidy, zejména lysofosfatidylcholin, lysofosfatidylethanolamin, lysofosfatidylinosit, lysofosfatidylserin a kyselina lysofosfatidová. Také tyto lysofosfolipidy jsou vhodné jako stabilizační přísady k lipasy a proteasy obsahujícím směsím zaživacích enzymů, zejména k pankreatin obsahujícím směsím zaživacích enzymů, ve smyslu tohoto vynálezu.

Jako glykolipidy mohou být použity především v rostlinách se vyskytující takzvané fytoglykolipidy obecného vzorce II,



kde

R⁵ a R⁶ znamená nezávisle na sobě podle okolností alkanoylový zbytek s 10 až 25 uhlíkovými atomy, jehož uhlovodíkový

zbytek může mít případně 1 až 4 dvojně vazby nebo je to vodík, přičemž ale R⁵ a R⁶ nemohou oba současně znamenat vodík a

R⁷ znamená mono- nebo disacharidový zbytek, jehož sacharidové stavební kameny jsou vybrány ze skupiny, skládající se z d-fruktosylu, d-galaktosylu, d-glukosylu a d-mannosylu,

jakož i jejich směsi.

Pokud ve sloučeninách obecného vzorce II představují R⁵ a R⁶ alkanoylový zbytek, tak je tento rozvětvený nebo nerozvětvený a zpravidla je nerozvětvený a obsahuje 10 až 25, výhodně 16 až 20 uhlíkových atomů. Případně může alkanoylový zbytek obsahovat až 4 dvojně vazby. Jako alkanoylové zbytky přicházejí v úvahu zejména zbytky mastných kyselin s dlouhými řetězci jako je kyselina palmitová, kyselina palmitoleinoná, kyselina stearová, kyselina olejová, kyselina linolová, kyselina linolenová nebo kyselina arachová.

Zbytky R⁷ představují mono- a disacharidové zbytky, které je možno vytvořit z molekul cukrů d-galaktosy, d-glukosy, d-mannosy nebo d-fruktosy. Zvláště výhodně má jako R⁷ význam d-galaktosa (potom se jedná o monogalaktosyl-diglycerid, MGDG) nebo digalaktosa (potom se jedná o digalaktosyl-diglycerid, DGDG; 1,2-diacyl-[α -D-galaktosyl-(1 → 6)- β -d-galaktosyl-(1 → 3)]-sn-glycerin).

Fosfolipidy obecného vzorce I a glykolipidy obecného vzorce II mají na středním uhlíkovém atomu glycerinové kostry vždy centrum chiralit a mohou mít konfiguraci R- nebo S-. Pro účel vynálezu mohou být použity jednotlivé stereoizomerní formy sloučenin obecného vzorce I a/nebo obecného vzorce II, jakož i odpovídající směsi.

Pro stabilizaci podle vynálezu farmaceutických přípravků z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů se

osvědčily jako prospěšné takové lipidové směsi, jak jsou získávány z přírodních zdrojů a které představují směsi různých fosfolipidů a případně různých glykolipidů. Jako výhodné příklady takovýchto přírodních lipidových směsí jsou jmenovány lecithiny. Zdroje takovýchto přírodních lecithinů mohou být zejména rostliny jako sojové boby, slunečnice, řepka, kukuřice nebo arašídý, jakož i živočiši nebo živočišné produkty jako je vaječný žloutek nebo mozková substance, ale také mikroorganismy. Lecithiny přírodního původu dodávají komerčně různí dodavatelé.

Z přírodně získaných lecithinů je pro účely podle vynálezu zejména vhodný sojový lecithin, zejména o fosfolipidy obohacený sojový lecithin jako například sojový lecithin s obsahem fosfolipidů 98 % hmotnostních. Neopracované, neobohacené rostlinné lecithiny obsahují zpravidla určitý podíl fytoglykolipidů. Přírodně získávané lecithiny jsou směsí různých fosfolipidů a v případě rostlinného původu také glykolipidů, jejichž složení není jednotné, nýbrž kolísá v závislosti na jejich původu. Tak vedle shora jmenovaných součástí se v podružném množství mohou vyskytovat ještě další fosfolipidy. Tabulka 1 slouží k tomu, aby znázornila průměrná složení některých neopracovaných, neobohacených komerčních lecithinů přírodního původu.

Tabulka 1

Složení některých lecithinů (% hmotnostní)				
	sojový lecithin	řepkový lecithin	arašidový lecithin	vaječný lecithin
fosfatidylcholin	22	37	23	73
fosfatidylethanolamin	23	29	8	17
fosfatidylserin	2	--	--	--
fosfatidylinosit	20	14	17	1
kyselina fosfatidová	5	--	2	--
sfingomyelin	--	--	--	3
fytoglykolipid	13	20	38	0
jiné fosfolipidy	12	--	12	--

Podle vynálezu stabilizované farmaceutické přípravky obsahují výhodně pankreatin obsahující směsi zažívacích enzymů.

V rámci předloženého vynálezu se pod termínem pankreatin rozumí pankreatin izolovaný z pankreatu savců, jehož obsah aktivních proteas byl případně zvýšen autolytickým štěpením tam původně obsažených proteasových zymogenů.

Výhodně se může jednat u pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů ve farmaceutických prostředcích stabilizovaných podle vynálezu o pankreatin získaný z pankreatu

savců, zejména o pankreatin z vepřů, který představuje směs různých zažívacích enzymů. Pankreatin ze savců, který se jako pomocný zažívací prostředek hodí pro humánní výživu, zejména pankreatin z pankreatu vepřů, neobsahuje lipasy pro lidské potřeby vždy v dostatečném množství. Proto je možno takovému pankreatinovým preparátům přidat dodatečně lipasy získané například z mikroorganismů. Také takto získané pankreatin/lipasové směsi představují vhodné enzymové směsi.

V pankreatinu, který je izolován ze savců, jsou obvykle proteasy, nebyl-li pankreatin podroben žádné další předúpravě, z větší části ve formě proteolytického neaktivního předstupně - zymogenu. Proto může být účelné podrobit surový pankreatin pro farmaceutické účely, který jako takový byl získán známým způsobem vhodnými porážkovými procesy z pankreatu, ještě hydrolytickému ošetření (autolýze). Při tomto ošetření se zymogeny převedou na aktivní proteasy. V tomto autolyticko ošetřeném pankreatinu (v následujícím zkráceně označovaném jako F-pankreatin) je zvláště vysoký obsah aktivních proteas, takže tyto F-pankreatiny jsou co do jejich lipolytické aktivity obzvláště ohroženy. Vynálezu odpovídající použití komplexních lipidů je zejména dobře vhodné pro stabilizaci lipolytické aktivity ve farmaceutických přípravcích s obsahem F-pankreatinu. Přitom je překvapující, že stabilizace lipasové aktivity se neděje desaktivací ve směsi obsažených aktivních proteas a tyto takto stabilizované enzymové směsi vykazují proto jak amylolytickou a lipolytickou, tak také proteolytickou aktivitu.

Pankreatin obsahující směsi zažívacích enzymů ve farmaceutických přípravcích chráněných podle vynálezu mohou kromě pankreatinu nádavkem obsahovat takové lipasy, které jsou obsažené v rostlinách nebo v mikroorganismech. Lipasy z mikroorganismů to mohou být ty, které jsou získávané z bakterií nebo houbových kultur jako jsou plísňe, například kmene *Rhizopus*.

Jako přídatné proteasové podíly mohou být k pankreatin obsahujícím směsím zaživacích enzymů ve farmaceutických přípravných chráněných podle vynálezu přidány ještě jiné živočišné a rostlinné proteasy, jakož i zejména z mikroorganismů jako jsou bakterie nebo houbové kultury jako jsou plísně, například kmene *Aspergillus*, získatelné proteasy.

Směsi zaživacích enzymů bez obsahu pankreatinu mohou jako lipasy obsahovat lipasy z rostlin a mikroorganismů. Lipasy z mikroorganismů mohou být ty, které jsou získávány z bakterií nebo houbových kultur jako jsou plísně, například kmene *Rhizopus*. Jako proteasy ve směsích zaživacích enzymů bez obsahu pankreatinu přicházejí v úvahu živočišné nebo rostlinné proteasy, jakož i zejména z mikroorganismů jako jsou bakterie nebo houbové kultury jako jsou plísně, například kmene *Aspergillus*, získatelné proteasy.

Farmaceutické přípravky podle vynálezu mohou kromě směsí zaživacích enzymů a komplexních lipidů doplňkově obsahovat ve vodě rozpustné farmaceutické pomocné látky a/nebo přídatné látky. Například mohou být obsaženy nosiče jako uhlohydráty, například mannit nebo rozpustné proteiny, jakož i konzervační prostředky.

Farmaceutické přípravky z pankreatin obsahujících směsí zaživacích enzymů ve smyslu vynálezu mohou být ve vodě rozpustné prášky, které kromě pankreatinu obsahují zejména F-pankreatin, komplexní lipidy v množství vystačujícím pro stabilizaci lipolytické aktivity za vlhka a případně přídatné, v technice známé, ve vodě rozpustné pomocné a/nebo přídatné látky.

Pro přípravu ve vodě rozpustných prášků mohou být enzymové směsi dalekosáhle zbaveny ve vodě nerozpustných podílů. Za tímto účelem může být vodný přípravek F-pankreatinu pomocí vhodného, v technice známého postupu pro oddělování pevných látek, například odstředováním nebo filtrací, zbaven

nerozpuštěných pevných látek a získaný roztok, případně po přidavku dalších pomocných a/nebo přídatných látek, známými metodami, například filtrační sterilizací, sterilizován. V návaznosti mohou být obsažené látky získaného čirého, případně sterilního roztoku známým sušicím postupem, například vymrazovacím sušením, opět získány jako pevné látky. Takto získané přípravky jsou vhodné pro přípravu po více hodin, například až osmi hodin, stabilních roztoků, prostých zárodků, které jsou vhodné pro kontinuální, rovnoměrnou gastrointestinální aplikaci pacientovi, například sondou.

Termínem "kontinuální aplikace" se rozumí v podstatě nepřerušené podávání vodných, případně sterilních roztoků s obsahem farmaceutických přípravků podle vynálezu po dobu jedné až více hodin, například osmi hodin nebo přes noc. Kontinuální aplikace roztoků může být výhodně uskutečňována zažívacím traktem, například do žaludku nebo do tenkého střeva vloženou sondou.

Účinnost lecithinových přísad je dalekosáhle nezávislá na relativním poměru lipasa/proteasa v enzymové směsi. Vhodné jsou například enzymové směsi, ve kterých poměr lipasa/celková proteasa - měřeno poměrem příslušných aktivit, které byly stanoveny podle ustanovení instituce "Federation Internationale Pharmaceutique" (nadále označováno zkratkou FIP) (viz R. Ruysen a A. Lauwers, Pharmaceutical Enzymes, Scientific Publishing Company, Gent 1978, s. 74 - 82, nadále citováno jako "Lauwers") a v následujícím bude udáváno v relativních jednotkách aktivity pod zkratkou FIP-E/g - může být 5:1 až 30:1.

Zásadně působí přísada komplexních lipidů podle vynálezu k farmaceutickým přípravkům z lypasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, zejména z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, stabilizaci proti vlhkostem způsobovanému poklesu lipolytické aktivity. Termínem "vlhkost" se má rozumět v podstatě vodná vlhkost, která může být

v rozmezí od velmi nepatrného obsahu vlhkosti v prášku směsi zaživacích enzymů až po vodné přípravy z tohoto prášku.

Přísada komplexních lipidů podle vynálezu se prokazuje jako účelná při získávání a podávání farmaceutických přípravků z pankreatin obsahujících směsí zaživacích enzymů pro stabilizaci lipolytické aktivity již při výrobních nebo získávacích postupech během takových procesních kroků, při nichž může dojít k inaktivaci lipasy, jako například při zpracování enzymové směsi za vlhka.

Ve vodném roztoku farmaceutického přípravku obsahujícího směs zaživacích enzymů je stabilizující účinek přidaných komplexních lipidů, zejména lecithinů, mimo jiné také závislý na hodnotě pH přípravku. Podle vynálezu se prokázaly jako příznivé hodnoty pH v rozmezí pH 3,5 až 9,0, výhodně v oblasti pH 4,0 až 7,0 a ještě výhodněji v oblasti pH 5,0 až 6,5.

Pro docílení patrné stabilizace lipolytické aktivity ve vodných farmaceutických přípravcích ze směsí zaživacích enzymů a z těchto přípravků připravených vodných roztoků pro sondovou aplikaci, je nutné přidat určité minimální množství komplexních lipidů. Obvykle mohou použité směsi zaživacích enzymů v přípravcích podle vynálezu vykazovat obsah lipasy, vyjádřený v jednotkách aktivity, například 2.000 až 200.000 FIP-E/g, jestliže obsahují jen lipasy ze sekretu pankreatu savců a od 2.000 do 500.000 FIP-E/g, jestliže obsahují lipasy z mikroorganismů, buď samotné nebo v kombinaci s lipasy z pankreatu. Množství nejméně 1 % hmotnostního komplexních lipidů, vztaženo na nasazené množství pevné směsi zaživacích enzymů s obsahem pankreatinu, například množství od 1 do 10 % hmotnostních, je potom vhodné pro dosažení patrné stabilizace. Přídavek větších množství komplexních lipidů je rovněž možný, nezpůsobuje však už žádné, za zmínku stojící, zlepšení stabilizace lipolytické aktivity. Tak je například pro stabilizaci směsí s obsahem pankreatinu nebo pankreatinu a přídavných lipas s komplexními lipidy zejména vhodný

lecithin, přísada nejméně 1 % hmotnostního, výhodně 2 až 5 % hmotnostních a ještě výhodněji 3 % hmotnostní lecithinu.

S pomocí použití podle vynálezu komplexních lipidů je možno takovéto vodné roztoky farmaceutických přípravků z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, které mají sklon k rychlému poklesu lipolytické aktivity, stabilizovat do té míry, že lipolytická aktivita ve směsi obsažených lipas v delším časovém úseku klesá jen nepatrně. Tak vykazuje vodný roztok přísadou lecithinu stabilizovaného F-pankreatinu po osmihodinové inkubační době při teplotě místnosti lipolytickou zbytkovou aktivitu ve výši 85 % původní výchozí aktivity. V komplexními lipidy stabilizovaném vodném roztoku F-pankreatinu bylo ještě po 24 hodinové inkubační době dokazatelné 50 % lipolytické výchozí aktivity. Naproti tomu ve srovnávacím roztoku, který nebyl stabilizován, klesla za jinak stejných podmínek lipolytická aktivita po osmi hodinách pod 20 % výchozí aktivity.

Stabilizace podle vynálezu vodných farmaceutických přípravků z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů proti poklesu lipolytické aktivity ve vodném médiu otevírá možnost podávat pacientům směsi zažívacích enzymů takovéhoho druhu ve formě vodných roztoků kontinuálně zaváděním do gastrontestinálního traktu. K tomuto účelu používané vodné roztoky by přirozeně měly být prosté zárodků, výhodně by dokonce měly být sterilní. Roztoky prosté růstu zárodků mohou být například roztoky, v nichž přísada konzervačních činidel zabraňuje množení samomnožitelných zárodků.

Podle vynálezu je dávana k dispozici souprava pro přípravu pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sondy vhodných vodných, proti poklesu lipolytické aktivity stabilizovaných roztoků prostých zárodků směsí zažívacích enzymů, vyznačující se tím, že jako součásti obsahuje:

- a) ve vodě rozpustný, pevný, zárodkůproský farmaceutický přípravek z lipasy a proteasy obsahujících směsí zaživacích enzymů, který případně může obsahovat dostačující množství komplexních lipidů pro stabilizaci vodných roztoků, které mají být připravovány, proti poklesu lipolytické aktivity,

a

- b) pro přípravu vodných roztoků postačující množství zárodečného růstu prostého vodného rozpouštědla, které kromě vody může obsahovat fyziologicky snesitelné soli a pomocné látky a, jestliže v ad a) jmenovaných pevných farmaceutických přípravcích není obsaženo postačující množství komplexních lipidů proti poklesu lipolytické aktivity pro stabilizaci vodných roztoků, které mají být připravovány, doplňkově obsahuje postačující množství komplexních lipidů pro stabilizování proti poklesu lipolytické aktivity vodných roztoků, které mají být připravovány.

Zejména může v soupravě použitý pevný přípravek a) být vymrazováním usušená, lipasy a proteasy obsahující směs zaživacích enzymů, která případně obsahuje komplexní lipidy. Výhodně se u směsi zaživacích enzymů jedná o pankreatin obsahující směs zaživacích enzymů.

Vodné roztoky, které jsou prosté růstu zárodků, mohou být uchovány přísadou v technice známých konzervačních prostředků, například parabenu. Sterilní roztoky, které rovněž jsou roztoky prosté růstu zárodků, mohou být uchovány sterilizačními postupy, které jsou v technice známe, například filtrační sterilizací.

Lipidy v soupravě obsažené se mohou výhodně vyskytovat jako ve směsi zaživacích enzymů (součást a)) již obsažené přísady. Pro výrobu prášku směsi zaživacích enzymů, který

obsahuje již komplexní lipidy, je například možno smísit roztok komplexních lipidů, případně prostý zárodečného růstu, s roztokem, případně prostým zárodečného růstu, směsí zaživacích enzymů a v návaznosti postupem v technice známým, například vymrazovacím sušením, usušit. Aby se z tohoto získal sondou aplikovatelný roztok, musí komplexní lipidy, jakož i směs zaživacích enzymů obsahující prášek být smíseny se spolu v soupravě rovněž obsaženým rozpouštědlem, případně v podmínkách chudých na zárodky nebo v podmínkách zárodkůprostých. Komplexní lipidy se mohou ale také již vyskytovat v rozpouštědlu (součást b)), například rozpuštěné jako koloid. Aby se získaly sondou aplikovatelné roztoky, musí být v tomto případě komplexní lipidy obsahující vodný roztok nebo koloid, případně za sterilních podmínek, smísen se směsí zaživacích enzymů (součást a)).

Příklady provedení vynálezu

1. Stabilizování lipolytické aktivity vodných pankreatin obsahujících roztoků sojovým lecithinem.

Pro stanovení různých změn lipolytické aktivity s přísadou a bez přísady komplexních lipidů ve vodných pankreatin obsahujících přípravných byly připraveny příslušné vzorky a inkubovány při 30°C. Z inkubačních vzorků byly stanoveny časové změny lipasové aktivity podle metody "Fédération Internationale Pharmaceutique/European Pharmacopeia" (nadále označováno zkratkou FIP/Ph.Eur., viz Lauwers, s. 74 - 82). Při této standardní metodě stanovení se nechá vzorek, zkoušený na lipasovou aktivitu, působit na triglycerid olivového oleje a uvolněné karboxylové kyseliny se titrují hydroxiden sodným na hodnotu pH 9. Lipasová aktivita vzorku se při tom stanoví srovnáním rychlosti, jakou vzorek hydrolyzuje emulzi olivového oleje s rychlostí, jakou suspenze pankreasového referenčního prášku hydrolyzuje stejný substrát za stejných podmínek.

1.1 Zjišťování lipasové stability bez přísady lecithinu

79,35 mg ve vodě rozpustného vymrazením usušeného F-pankreatinu s lipolytickou aktivitou 50473 FIP-E/g bylo rozpuštěno ve 4,0 ml ledově chladné vody nejvyšší čistoty (Nanopur^(R) firmy Barnstead), hodnota pH byla 1N HCl nastavena na 6,2 a šarže potom doplněna vodou nejvyšší čistoty na 5,0 ml. Z této šarže byl okamžitě odebrán vzorek pro stanovení lipolytické výchozí aktivity ("vzorek nulté minuty"). Zbývající šarže byla inkubována na 30°C vodní lázni. Pro odběr vzorku byla šarže dobře promíchána, vzorek odebrán vhodnou pipetou a ihned zředěn ledově chladným lipasovým rozpouštědlem tak, aby stanovení lipasy bylo k dispozici mezi 0,5 a 1,5 ml zkoušeného vzorku s lipolytickou aktivitou od 8 do 16 FIP-E. Jako lipasové rozpouštědlo byl použit podle FIP/Ph.Eur. roztok 10,0 ml NaCl, 6,06 g tris-(hydroxymethyl)-aminomethanu (v následujícím označován zkratkou "TRIS") a 4,9 g anhydridu kyseliny maleinové v 900 ml vody nejvyšší čistoty, jehož hodnota pH byla 4 N hydroxidem sodným nastavena na pH 7 a potom byl doplněna vodou nejvyšší čistoty na 1.000 ml.

Pro stanovení časového průběhu lipasové aktivity byly po 15, 30, 60, 120 a 180 minutách odebrány z thermostatované šarže další vzorky a v nich vždy během 30 minut stanovena lipasová aktivita metodou FIP/Ph.Eur. (Lauwers, s. 78).

Zjištěná lipasová aktivita "vzorku nulté minuty" v jednotkách FIP-E/ml byla vzata jako hodnota 100 % a hodnoty aktivity naměřené během dalších inkubačních dob byly vztaženy procentuálně na tuto hodnotu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

1.2 Zjišťování lipasové stability s přísadou lecithinu

Pro přípravu lecithinového roztoku bylo 100 mg sojového lecithinu (obsah fosfolipidu 98 % hmotnostních od firmy Roth) při teplotě místnosti uhněteno nejprve s trochou vody nejvyšší

čistoty a potom doplněno na 20,0 ml. Na směs bylo za míchání po 2 minuty až do dosažení homogenního, koloidního roztoku působeno ultrazvukem. Potom bylo rozpuštěno 80,0 mg ve vodě rozpustného, vymrazením vysušeného F-pankreatinu s lipolytickou aktivitou 54694 FIP-E/g ve 4 ml vody nejvyšší čistoty a hodnota pH roztoku nastavena 1 N HCl na 6,2. Bylo přidáno 0,4 ml lecithinového roztoku (2,5 % hmotnostních lecithinu, vztaženo na nasazený práškový F-pankreatin) a šarže byla při dobrém promíchávání doplněna ledově chladnou vodou nejvyšší čistoty na 5,0 ml.

Odběr vzorku a stanovení lipolytických aktivit při příslušných inkubačních dobách se provádělo tak, jak je popsáno v bodě 1.1. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2

Změny lipolytických aktivit ve vodných pankreatinových roztocích s přísadou a bez přísady lecithinu								
pH	přísada lecithinu [% hmotnostní]	% lipolytické aktivity po čase t [min]						
		0	15	30	60	120	180	
6,2	--	100	69	51	41	26	21	
6,2	2,5	103	93	90	86	80	75	

2. Stabilizování lipolytické aktivity vodných pankreatin obsahujících přípravků v časovém průběhu 8 hodin

Ve vodných pankreatinových přípravcích nastávají, v závislosti na různých faktorech jako je teplota, hodnota pH a proteolytická aktivita obsažených proteas, ztráty lipolytické aktivity. Přísadou komplexních lipidů jako je lecithin může být aktivita lipasy během osmihodinové inkubace při 25°C znatelně stabilizována. V následujícím pokusu byly proto v průběhu 8 hodin srovnávány lipolytické aktivity ve vodných suspenzích a roztocích F-pankreatinu vždy s přísadou a bez přísady komplexních lipidů.

2.1 Příprava inkubační šarže

Pro porovnání byly zkoumány čiré pankreatinové roztoky a pankreatinové suspenze z F-pankreatinu vždy s přísadou a bez přísady lecithinu.

Byly připraveny následující vodné přípravky:

a) Pankreatinový roztok bez lecithinu

V ledově chladné vodě nejvyšší čistoty bylo rozpuštěno 77,5 mg ve vodě rozpustného, vymrazením vysušeného F-pankreatinového prášku jako je popsáno pod bodem 1.1, přičemž hodnota pH byla nastavena 1N HCl na 6,2.

b) Pankreatinový roztok s lecithinem

81,0 mg ve vodě rozpustného, vymrazením vysušeného F-pankreatinového prášku bylo jako je popsáno v bodě 1.2 po nastavení hodnoty pH na 6,2 předmíseno s 0,94 ml lecithinového roztoku a doplněno ledově studenou vodou nejvyšší čistoty na 5,0 ml.

c) Pankreatinová suspenze bez lecithinu

2,0 g F-pankreatinu bylo 30 minut mícháno ve 100 ml ledově chladné vody nejvyšší čistoty, získána kalná suspenze.

d) Pankreatinová suspenze s lecithinem

2,0 g F-pankreatinu bylo předmíšeno se 100 mg sojového lecithinu (firmy Roth) a mícháno 30 minut ve 100 ml ledově chladné vody nejvyšší čistoty. Byla získána kalná suspenze.

2.2 Provedení pokusu

Z ledově chladných roztoků respektive suspenzí, připravených podle postupů v bodu 2.1, byly ihned po jejich přípravě odebrány vzorky pro stanovení lipolytické výchozí aktivity ("vzorky nulté minuty"). Potom byl zbytek šarže ve zkumavkách inkubován 8 hodin při 25°C. Během této doby byly odebrány další vzorky po 30 minutách a následně v hodinových intervalech. Odběr vzorků, zředění a stanovení lipasové aktivity bylo prováděno jak je popsáno v bodu 1.1, pokusná teplota ale nyní byla, na rozdíl od horního předpisu, 25°C.

Lipasová aktivita (udávaná ve FIP-E/ml) "vzorku nulté minuty" určité inkubační šarže byla stanovena jako hodnota 100 % a během dalších inkubačních časů naměřené aktivity byly procentuálně vztaženy na tuto hodnotu. Výsledky jsou zachyceny v následujících tabulkách 3 a 4.

Tabulka 3

Průběh lipolytické stability během 8 hodin v pankreatinových roztocích s přísadou a bez přísady lecithinu												
šarže	obsah lecithinu [% hmot.]	pH	% lipolytické aktivity po čase t [h]									
			0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
a)	--	6,2	100	72	64	47	36	30	27	24	21	19
b)	5,8	6,2	100	97	98	96	98	94	92	89	85	85

Tabulka 4

Průběh lipolytické stability během 8 hodin v pankreatinových suspenzích s přísadou a bez přísady lecithinu												
šarže	obsah lecithinu [% hmot.]	pH	% lipolytické aktivity po čase t [h]									
			0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
c)	--	7,1	100	72	56	43	34	29	25	21	18	16
d)	5	7,1	100	97	97	92	84	77	72	69	64	60

3. Stabilizování mikrobiální lipasy vůči mikrobiální protease přísadou komplexních lipidů

V následujícím pokusu bylo ukázáno, že také aktivitu mikrobiálních lipas v přítomnosti aktivních mikrobiálních

proteas je možno stabilizovat přísadou komplexních lipidů. Pro tento účel byly připraveny tři zkušební roztoky, které obsahovaly mikrobiální lipasy, mikrobiální lipasy plus mikrobiální proteasy, jakož i mikrobiální lipasy s přísadou lecithinu plus mikrobiální proteasy. V návaznosti byly stanoveny lipolytické aktivity v těchto zkušebních roztocích a výsledky pro srovnání uspořádány do tabulek.

3.1 Příprava zkušebních roztoků

Byly připraveny následující roztoky:

a) Lipasový roztok

245 mg lipasy z *Rhizopus oryzae* (Lipase 7-AP 15, Amano Pharmaceutical Co., LTD, Nagoya, Japonsko) s aktivitou 170.000 FIP-E/g bylo rozpuštěno v 50 ml ledově chladného roztoku chloridu sodného o koncentraci 1 % hmotnostního.

b) Proteasový roztok

390 mg *Aspergillus-proteasy* (Prozyme 6; Amano Pharmaceutical Co., LTD, Nagoya, Japonsko) s aktivitou 7.600 FIP-E/g bylo rozpuštěno ve 25 ml ledově chladného roztoku chloridu sodného o koncentraci 1 % hmotnostního.

c) Lecithinový roztok

1 g lecithinu (čistý sojový lecithin s obsahem fosfolipidu 98 % hmotnostních od firmy Roth) byl předložen do 40 ml vody nejvyšší čistoty ("Nanopure^(B)" od firmy Barnstead) a za přelévání po dobu 2 minut dispergován ultrazvukem na koloid.

Z těchto roztoků byly v ledové lázni připraveny následující inkubační roztoky o celkovém objemu 5 ml:

Tabulka 5

Inkubační roztoky pro stanovení Rhizopus-lipasové aktivity				
inkubační roztok	lipasový roztok	proteasový roztok	lecithinový roztok	roztok NaCl
I	3 ml	--	--	2 ml
II	3 ml	1 ml	--	1 ml
III	3 ml	1 ml	1 ml	--

Hodnota pH všech inkubačních roztoku činila po přípravě 6,5 při 37°C.

3.2 Provedení pokusů

Z ledově chladných inkubačních roztoků I, II, III byly okamžitě po jejich přípravě odebrány vzorky pro stanovení výchozí aktivity ("vzorky nulté minuty"), zbytek těchto třech šarží byl inkubován ve vodní lázni při 37°C.

Pro odběr vzorků byla šarže dobře promíchána, vzorek byl odebrán vhodnou pipetou a okamžitě rozředěn ledově chladným lipasovým roztokem, tak jak bylo popsáno v bodu 1.1. Z těchto vzorků byla odebráno vždy určitá množství (v tabulce 6 označeno "X") a zředěno 1 %-ním roztokem chloridu sodného na 5 ml. Z těchto zkušebních roztoků bylo vždy nasazeno 0,5 ml v testu lipasové aktivity.

Tabulka 6

Odebrané množství vzorku pro přípravu zkušební roztoku			
zkušební roztok	X μ l zkušební roztoku odebraného po čase t =		
	0 minut	30 minut	60 minut
I	150	--	160
II	160	500	1000
III	160	250	250

3.3 Stanovení rhizopus-lipasové aktivity

Katalytická aktivita rhizopus-lipasy byla měřena stanovením množství volných mastných kyselin, které se vytvořily během definované doby při pH 7,0 a 37°C z emulze olivového oleje v přítomnosti taurocholanu sodného o koncentraci 0,025 % hmotnostních. Aby bylo zaručeno, že budou podchyceny všechny mastné kyseliny, následovala potom titrace až na pH 9,0. Slepý titrační pokus substrátové emulze sloužil pro podchycení titrovatelných substancí, které nevznikly lipasovou aktivitou.

Rhizopus-lipasová aktivita pokusné substance byla stanovena porovnáním rychlosti, kterou suspenze substance hydrolyzovala emulzi olivového oleje s rychlostí, kterou suspenze rhizopus-lipasového referenčního standardu hydrolyzovala stejnou emulzi olivového oleje za stejných podmínek.

Chemikálie

1. Voda:

Používána byla voda nejvyšší čistoty "Nanopure^(R)" od firmy Barnstead. V následujícím bude označována jako "voda nejvyšší čistoty".

2. Roztok arabské gumy:

110 g arabské gumy a 12,5 g chloridu vápenatého bylo za míchání rozpuštěno (3 hodiny) ve vodě nejvyšší čistoty, doplněno na 1.000 ml a odstředěno. Roztok byl naplněn do 250 ml plastických nádob a skladován při -20°C.

Arabská guma (Acaciae-Gumi, DAB 10/Ph.Eur.), chlorid vápenatý p.a.

3. Substrátová emulze:

130 ml olivového oleje a 400 ml roztoku arabské gumy (viz chemikálie ad 2) bylo emulgováno po dobu 15 minut ve vhodné míchačce s vysokým počtem otáček. Teplota byla udržována pod 30°C. Nejméně 90 % kapek v emulzi mělo průměr menší než 3 µm a žádná nebyla větší než 10 µm. Emulze byla připravována denně nová.

Olivový olej (skladovaný v chladničce, jakosti DAB).

4. Roztok taurocholanu sodného 0,5 % (m/V):

0,5 g taurocholanu sodného (lipasově aktivní směs, směs konjugovaných kyselin žlučových, mj. tuarochofanu sodného) bylo rozpuštěno vodou nejvyšší čistoty na 100,0 ml. Roztok byl připravován denně čerstvý.

Tuarochofan sodný (lipasově aktivní směs), FIP.

5. Roztok chloridu sodného 1 % (m/V) ve vodě nejvyšší čistoty

6. Ústojný roztok pH 4,5:

2 g chloridu sodného a 9,2 g dihydrogenfosforečnanu sodného bylo rozpuštěno v 950 ml vody nejvyšší čistoty, nastaveno kyselinou solnou na pH 4,5 a doplněno vodou nejvyšší čistoty na 1.000 ml.

Chlorid sodný p.a., dihydrogenfosforečnan sodný,
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$.

7. Hydroxid sodný 0,1 N

Referenční suspenze:

Rhizopus-lipasový referenční standard byl zamíchán do ústojného roztoku (chemikálie ad 6) a tak zředěn roztokem chloridu sodného (chemikálie ad 5), až enzymový roztok měl 12 až 18 jednotek rhizopus-lipasové aktivity FIP-E/ml. Při standardu 55.000 FIP-E na 1 g bylo rozpuštěno 63 mg ve 20 ml ústojného roztoku (chemikálie ad 6) během 15 minut v ledové lázni. 10 ml tohoto roztoku bylo zředěno v ledové lázni roztokem chloridu sodného (chemikálie ad 5) na 100 ml. K testu bylo nasazeno 0,5 ml tohoto roztoku.

Rhizopus-lipasový referenční standard FIP (fungi-lipasa, FIP-standard).

Zkušební roztoky:

Byly použity zkušební roztoky I, II a III.

Provedení pokusů:

Na autotitrátoru titračního systému "pH-Stat" od firmy Radiometer byl koncový bod pro pH-Stat-titraci nastaven na pH 7,0. Do reakční nádoby bylo vloženo:

- 12,0 ml emulze olivového oleje, FIP (chemikálie ad 3)
- 6,5 ml vody nejvyšší čistoty (chemikálie ad 1)
- 1,0 ml roztoku taurocholanu sodného (chemikálie ad 4)

Směs byla zahřáta na 37,0°C. Hodnota pH byla 0,1 N hydroxidem sodným (chemikálie ad 7) nastavena na pH 7,0. Potom byla byreta nastavena na "0".

Reakce byla nastartována přidavkem 0,5 ml referenční suspenze, když měla být měřena referenční hodnota, nebo 0,5 ml zkoušeného vzorku, jestliže měla být měřena lipasová aktivita ve zkoušeném vzorku. Po 10 minutách byl koncový bod pro pH-Stat-titraci nastaven na pH 9,0. Když byla hodnota pH 9,0 dosažena (tento proces trval méně než 30 sekund), byla titrace přerušena a byla odečtena spotřeba 0,1 N hydroxidu sodného.

Pro stanovení slepé hodnoty byl pro referenční suspenzi a pro zkoušený vzorek koncový bod titrace na titrátoru nastaven ihned na pH 9,0. Po ručním nastavení hodnoty pH v reakční šarži na pH 7,0 a po přidavku 0,5 ml referenční suspenze nebo zkoušeného roztoku bylo okamžitě titrováno na pH 9,0. Z odečtené spotřeby 0,1 N hydroxidu sodného byla vypočítána rhizopus-lipasová aktivita ve FIP-E/ml.

Ve zkoušených roztocích I, II a III zjištěné výchozí lipasové aktivity v jednotkách FIP-E/ml byly vzaty jako hodnoty 100 %. Během následující inkubační doby v délce 1 hodiny naměření hodnoty aktivity byly potom vždy procentuálně vztaženy na tuto výchozí hodnotu a jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7

Stabilizace aktivity rhihozopus-lipasy sojovým lecithinem			
zkoušený roztok	% lipolytické aktivity po t =		
	0 min	30 min	60 min
I roztok lipasy	100	100	95
II roztok lipasy + proteasy	100	17	6
III roztok lipasy s lecithinem + proteasou	100	94	84

4. Příklady farmaceutického přípravku

- A) Vezme se 20,0 g F-pankreatinu ve 400 ml vody a hodnota pH se rychle nastaví přidávkem 1 N HCl na 6,2. Za těchto podmínek se extrahuje 1 hodinu při 4°C. Čirý, pankreatinový extrakt obsahující produkt se odstředí při 53.000 g a následně se steriluje filtrací filtrem s velikostí pórů 2 µm.
- B) 1,0 g sojového lecithinu (98 % hmotnostních fosfatidylcholinu) se rozpustí v 50 ml vody a v zatavené skleněné ampuli se 45 minut sterilizuje při 140°C.
- C) 400 ml pod bodem A) připraveného pankreatinového extraktu se v chladu a za sterilních podmínek smísí s 25 ml pod bodem B) připraveného lecithinového roztoku. Směs se vymrazením usuší, přičemž se získá 16 g prášku, který se za sterilních podmínek naplní v dávkách po 2,5 g do infuzních láhví.

5. Příklady pro soupravy pro farmaceutické použití

5.1 Souprava 1

- A) 40,0 g F-pankreatinu se vloží do 400 ml vody a hodnota pH se rychle přidavkem 1 N HCl nastaví na 6,2. Za těchto podmínek se extrahuje 1 hodinu při 4°C. Čirý, pankreatinový extrakt obsahující produkt se odstředí při 53.000 g a následně se sterilně prefiltruje přes s velikostí pórů 2 µm. Extrakt se za sterilních podmínek naplní po 25 ml dávkách do 100 ml infuzních láhví a usuší se vymrazením.
- B) 2,0 g sojového lecithinu (98 % hmotnostních fosfatidylcholinu) se rozpustí ve 20 ml vody a homogenizuje se ultrazvukem. Koloidní roztok se v zatavené skleněné ampuli sterilizuje 45 minut při 140°C. Z toho se odebere dávka o velikosti 12,5 ml, která se smísí s 1600 ml sterilizované vody a v dávkách po 100 ml se naplní do infuzních láhví.

Pro použití se obsah jedné láhve s obsahem pevných látek z bodu A) smísí s obsahem roztoku jedné láhve z bodu B).

5.2 Souprava 2

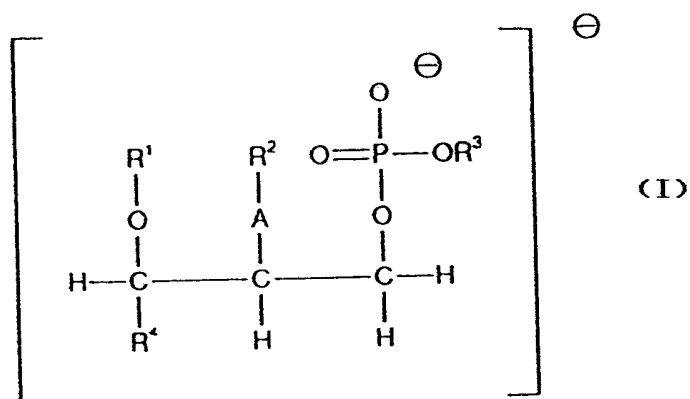
- A) 40,0 g F-pankreatinu se vloží do 800 ml vody a hodnota pH se rychle přidavkem 1 N HCl nastaví na 6,2. Za těchto podmínek se extrahuje 1 hodinu při 4°C. Čirý, pankreatinový extrakt obsahující produkt se odstředí při 53.000 g a usazenina se zahodí.
- B) 32,0 g mannitu se rozpustí ve 200 ml vody, smísí se pankreatinovým extraktem získaným v bodu A) a spojené roztoky se filtračně sterilizují.

- C) 5,0 g sojového lecithinu (98 % hmotnostních fosfatidylcholinu) se rozpustí ve 50 ml vody a homogenizuje se ultrazvukem. Tento koloidní roztok se v zatavené skleněné ampuli sterilizuje 45 minut při 140°C.
- D) 1000 ml podle bodu B) získaného pankreatinového extraktu se za sterilních podmínek smísí se 16 ml lecithinového roztoku, který byl připraven podle bodu C) a usuší se vymrazením. Získaný prášek se v dávkách po 10,0 g sterilně naplní do 200 ml láhví.
- E) Deionizovaná a filtračně sterilizovaná voda se naplní za sterilních podmínek do 200 ml láhví.

Pro použití se obsah jedné láhve s práškem podle bodu D) rozpustí v obsahu láhve naplněné vodou podle bodu E.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití komplexních lipidů jako stabilizujících přísad proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity ve vodě rozpustných farmaceutických přípravků z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sond.
2. Použití komplexních lipidů podle nároku 1, přičemž lipasy a proteasy obsahující směsi zažívacích enzymů jsou pankreatin obsahující směsi zažívacích enzymů.
3. Použití komplexních lipidů podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jsou nasazeny jako stabilizující přísady k farmaceutickým přípravkům z pankreatin obsahujících směsí zažívacích enzymů, které vedle pankreatinu obsahují přídatné lipasy, vybrané ze skupiny, která se skládá z rostlinných lipas, bakteriálních lipas a lipas z houbových kultur.
4. Použití komplexních lipidů podle některého z předchozích nároku 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako komplexní lipidy se používají fosfolipidy, glykolipidy nebo jejich směsi.
5. Použití komplexních lipidů podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako komplexní lipidy se používají fosfolipidy nebo tyto fosfolipidy obsahující lipidové směsi.
6. Použití komplexních lipidů podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako fosfolipidy se používají soli aniontů obecného vzorce I,



kde

R¹ znamená vodík nebo alkanoylový zbytek s 10 až 25 uhlíkovými atomy, jehož uhlovodíkový zbytek případně obsahuje 1 až 4 dvojně vazby,

R² znamená vodík nebo alkanoylový zbytek s 10 až 25 uhlíkovými atomy, jehož uhlíkový zbytek případně obsahuje 1 až 4 dvojně vazby, nebo, jestliže R¹ nezastupuje vodík, také může znamenat vodík,

R³ znamená vodík, nižší alkylovou skupinu, která je případně substituovaná skupinou amino, nižší trialkylamonio, karboxylovou skupinou vázanou na uhlíkový atom nesoucí aminofunkci nebo hydroxy substituovanou cykloalkylskupinou,

R⁴ znamená vodík nebo uhlovodíkový řetězec s 10 až 25 uhlíkovými atomy, který případně obsahuje 1 až 4 dvojně vazby,

A zastupuje kyslík nebo NH,

s fyziologicky snesitelnými kationty nebo jejich směsmi.

7. Použití komplexních lipidů podle nároku 6,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že ve fosfolipidech
obecného vzorce I je zbytek R^3 vybrán ze skupiny, která se
skládá z vodíku, aminoethylu, cholylu, serylu, glycerylu
nebo myo-inositylu.

8. Použití komplexních lipidů podle nároku 7,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že se používají
fosfolipidy ze skupiny, která se skládá z kyseliny
fosfatidové, fosfatidylcholinu, fosfatidylserinu,
fosfatidylethanolaminu, fosfatidylinositu a sfingomyelinu
nebo tyto látky obsahujících směsí.

9. Použití komplexních lipidů podle nároku 4,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako komplexní
lipidy se používají lecithiny ze sojových bobů, řepky,
kukuřice, slunečnic, arašídů, slepičích vajec nebo
mikroorganismů.

10. Použití komplexních lipidů podle nároku 9,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako komplexní
lipidy se používají lecithiny ze sojových bobů.

11. Použití komplexních lipidů podle některého z předchozích
nároku 2 až 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že
lipidy se přidávají k pankreatinu nasazenému ve
farmaceutických přípravcích již při jeho získávání nebo
zpracování pro stabilizování proti poklesu lipolytické
aktivity během procesních kroků, které jsou spojeny se
zpracováním za vlhka.

12. Ve vodě rozpustné farmaceutické prostředky z lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů, které jsou vhodné pro přípravu vodných roztoků pro kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sondové aplikace, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahují postačující množství komplexních lipidů podle nároků 1 až 10 pro stabilizování proti vlhkostí způsobovanému poklesu lipolytické aktivity .
13. Farmaceutické přípravky podle nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se u lipasy a proteasy obsahujících směsí zažívacích enzymů jedná o pankreatin obsahující směsi zažívacích enzymů.
14. Farmaceutické přípravky podle nároku 13, v y z n a č u j í c í s e t í m, že směsi zažívacích enzymů obsahují kromě pankreatinu přídatné lipasy, vybrané ze skupiny, skládající se z rostlinných lipas, bakteriálních lipas a lipas z houbových kultur.
15. Farmaceutické přípravky podle některého z nároků 12 až 14, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahují takové množství komplexních lipidů, že lipolytická aktivita je stabilizována vodnými roztoky přípravků tak, že lipolytická výchozí aktivita vodného roztoku za dobu 8 hodin poklesne nejvýše o 20 %.
16. Farmaceutické přípravky podle nároku 15, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahují takové množství komplexních lipidů, aby lipolytická výchozí aktivita vodných roztoků přípravků za dobu 24 hodin poklesla nejvýše o 50 %.

17. Farmaceutické přípravky podle některého z nároků 12 až 14, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahují komplexní lipidy pro stabilizaci proti poklesu lipolytické aktivity v koncentraci od 1 do 10 % hmotnostních, výhodně od 2 do 5 % hmotnostních, vztaženo na směs zaživacích enzymů.
18. Farmaceutické přípravky podle některého z nároků 12 až 17, v y z n a č u j í c í s e t í m, že tam obsažený pankreatin je autolyticky upravený pankreatin.
19. Souprava pro přípravu a kontinuální zavádění do gastrointestinálního traktu pomocí sond, proti poklesu lipolytické aktivity stabilizovaným, zárodečného růstu prostých, vodných roztoků směsí zaživacích enzymů, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako součásti obsahují:
 - a) ve vodě rozpustný, pevný, zárodkůprostý farmaceutický přípravek lipasy a proteasy obsahujících směsí zaživacích enzymů, který případně může obsahovat dostačující množství komplexních lipidů podle některého z nároků 1 až 10 pro stabilizaci vodných roztoků, které mají být připravovány, proti poklesu lipolytické aktivity a
 - b) pro přípravu vodných roztoků postačující množství zárodečného růstu prostého, vodného rozpouštědla, které kromě vody případně obsahuje fyziologicky snesitelné soli a pomocné látky a, jestliže v ad a) jmenovaných pevných farmaceutických přípravcích není obsaženo postačující množství komplexních lipidů pro stabilizaci vodných roztoků, které mají být připravovány, proti poklesu lipolytické aktivity, doplňkově obsahuje postačující množství komplexních lipidů podle některého z nároků 1 až 10, pro stabilizování vodných roztoků, které mají být připravovány, proti poklesu lipolytické aktivity .

20. Souprava podle nároku 19, v y z n a č u j í c í s e t í m, že pevný přípravek a) představuje vymrazením usušený, lipasy a proteasy obsahující směs zaživacích enzymů, která případně obsahuje komplexní lipidy.
21. Souprava podle nároku 20, v y z n a č u j í c í s e t í m, že vymrazením usušená směs zaživacích enzymů obsahuje pankreatin.