



FI000101043B



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 101043 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats 15.04.98

(51) Kv.lk.6 - Int.kl.6

A 61K 47/24, 47/28, 47/44, 38/28
38/27, 38/31, 38/18, 38/23

(21) Patenttihakemus - Patentansökning 924340

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag 28.09.92

(24) Alkupaivä - Löpdag 02.04.91

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig 28.09.92

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan PCT/GB91/00510

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

29.03.90 GB 9007052 P

(73) Haltija - Innehavare

1. Skua Investments Limited, 19/21 Circular Road, Douglas, Isle of Man, United Kingdom, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Cho, Young W., Unit 20, 1 High Street, Freemantle, W.A. 6160, Australia, (AU)
2. Flynn, Michael John, Hunterscombe, Dorking Road, Leatherhead, Surrey KT22 8JT, United Kingdom, (GB)
3. Shepherd, Thomas Smith, 20 Turpine Rise, Windlesham, Surrey GU20 6NG, United Kingdom, (GB)

(74) Asiamies - Ombud: Berggren Oy Ab, Jaakonkatu 3 A, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi
Förfarande för framställning av en farmaceutisk formulering

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Farmaseuttinen valmiste käsittää biologisesti aktiivista ainetta kuten insuliinia, erytropoietiinia, kalsitoniinia ja kasvuhormonia sekä siihen liittyneenä fosfolipidiä sellaisen materiaalin muodostamiseksi, joka materiaali osallistuu alfa-glyseroli- tai muuhun reittiin suoliston epiteelisoluissa esiintyvien lesitiinien tuottamiseksi. Biologisesti aktiiviset proteiinit, joita annetaan tällaisessa valmisteessa suun kautta, ovat biologisesti saatavia ja biologisesti aktiivisia.

En farmaceutisk beredning innefattar ett biologiskt aktivt material, såsom insulin, erytropoietin, kalcitonin och tillväxthormon, samt en därtill ansluten fosfolipid för bildande av ett material som deltar i alfa-glyserolrutten eller en annan rutt för producering av lecitiner, vilka förekommer i intestinala epitelceller. Biologiskt aktiva proteiner, vilka i en sådan beredning administreras oralt, är biologiskt tillgängliga och biologiskt aktiva.

Menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi

5 Keksinnön kohteena on menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi. Erityisemmin, keksinnön mukaisella menetelmällä valmistetaan suun tai peräsuolen kautta annettavia valmisteita, jotka sisältävät biologisesti aktiivista ainetta, erityisesti proteiinimateriaalia.

10

Käytännön lääketieteessä ollaan jo useiden vuosien ajan määrätty tai suositeltu useita biologisesti aktiivisia aineita monien erilaisten sairauksien tai tilojen hoitamiseksi tai ennaltaehkäisemiseksi. Eräs parhaiten tunnettu, ei kuitenkaan ainoa, 15 lääkkeiden määräämä, biologisesti aktiivinen proteiinimateriaali on insuliini, jota käytetään sokeritaudin (diabetes) hoitamiseen.

Mahdollisesti helpoin tapa ottaa lääkettä tapahtuu suun kautta 20 nielemällä. Tällainen antoreitti, joka soveltuu siirapeille, eliksiireille, tableteille, kapseleille, rakeille, jauheille tai mille tahansa muulle tarkoituksenmukaiselle valmisteele, on yleensä yksinkertainen ja vaivaton, ja se on useimmiten potilaan mielestä vähiten hankala tai epämiellyttävä antotapa. 25 Niinpä lääketieteellisen hoidon ja ennaltaehkäisyn kannalta on valitettavaa, että proteiinilääkkeiden ja muiden biologisesti aktiivisten aineiden tässä edullisessa antoreitissä materiaali kulkeutuu mahan läpi, joka maha on monille aineille, proteiinit 30 mukaan lukien, hyvin haitallinen ympäristö. Kun mahan hapan, hydrolyyttinen tai proteolyttinen ympäristö on kehittynyt kunnolla siten, että proteiinimateriaali pilkkoutuu aminohapoiksi ja oligopeptideiksi myöhempää anaboliaa varten, niin ei ole millään tavalla yllättävää, että näistä monista erilaisista biologisesti aktiivisista proteiinimateriaaleista, niitä yksin- 35 kertaisesti suun kautta otettuina, jää jäljelle vain hyvin vähän, mikäli lainkaan, niiden kulkeuduttua mahan läpi ohutsuoleen, jossa ne voisivat imeytyä elimistöön.

Tämän johdosta, kuten monet sokeritautipotilaat voivat vahvistaa, useita proteiinilääkkeitä on otettava ruuansulatuskanavan 40 ulkopuolisesti, usein ihon alaisena, lihaksen sisäisenä tai

laskimon sisäisenä injektiona, mikä on potilaan kannalta hankalaa, epämukavaa ja vaikeata.

Tämä ei ole mikään yksittäinen ongelma, koska tällaiset sairau-
5 raudet, joiden hoito edellyttää proteiinimateriaalien antamis-
ta, voivat olla hyvin laajalle levinneitä. Esimerkiksi sokeri-
tautia (diabetes mellitus) sairastaa hyvin suuri määrä ihmisiä
useissa maissa. Osittain sokeritaudin jotakin muotoa sairasta-
vien potilaiden suuresta lukumäärästä johtuen olemassa on tarve
10 kehittää suun kautta annettavat insuliinivalmisteet, jotka on
suojustu jollain tavalla mahan vahingoittavaa ympäristöä vas-
taan. Vaikka alalla onkin yritetty jo tätä ennen kehittää täl-
laisia valmisteita, niin kuitenkin tämän hakemuksen tekijät
eivät ole tietoisia yhdestäkään tällaisesta tekniikan nykytason
15 mukaisesta koostumuksesta, jota olisi tällä hetkellä saatavana
kaupallisesti merkittävinä määrinä. Hakemuksen tekijöiden tie-
dossa ovat seuraavat aikaisemmat ehdotukset:

20 Julkaisun WO-A-8701035 kohteena ovat rasvaliukoisia lääkeainei-
ta ja vitamiineja sisältävät, ruuansulatuskanavan ulkopuolises-
ti annettavat valmisteet; nämä valmisteet käsittävät "näennäis-
misellejä".

25 Julkaisussa WO-A-8705505 on kuvattu suun kautta nielaistavat
insuliinikoostumukset, joissa insuliini on pinnoitettu kiin-
teiden hiukkasten pinnalle vesipreparaatista; sitten nämä in-
suliinilla pinnoitetut hiukkaset on puolestaan pinnoitettu li-
pidillä.

30 Julkaisussa US-A-4849405 on kuvattu suun kautta nielaistavat
insuliinikoostumukset; nämä koostumukset on kuvattu kaksi faa-
sia käsittäviksi valmisteiksi, ja vaikuttaa siltä, että kummat-
kin faasit sisältävät vettä; nämä faasit pidetään tehokkaasti
toisistaan erillään koaservaattijärjestelmällä.

35 Julkaisussa EP-A-0140085 on kuvattu lääkeainetta sisältävät
lipidivesikkelivalmisteet.

Julkaisussa Shichiri et al., Acta Diabet. Lat., 15 175-183 (1978), on kuvattu vesiöljyssä-vedessä -insuliinimisellit.

5 Julkaisuissa US-A-4784845 ja US-A-4816247 on kuvattu emulsio-
koostumukset hydrofobisten lääkeaineiden antamiseksi ruuan-
sulatuskanavan ulkopuolisesti.

Patenttijulkaisussa JP-A-55017328 on kuvattu suun kautta nie-
laistavat, insuliinia sisältävät vesiöljyssä-vedessä -emulsiot.

10

Toukokuun 2. päivänä, 1990, julkaistun patenttijulkaisun EP-A-
0366277 kohteena ovat parannetut farmaseuttiset valmisteet,
joita voidaan antaa suun tai peräsuolen kautta. Erityisemmin,
tässä julkaisussa EP-A-0366277 on kuvattu farmaseuttinen val-
15 miste, jonka käsittämässä mikroemulsiossa on hydrofiilinen faa-
si ja hydrofobinen faasi ja jossa valmisteessa (A) hydrofiili-
nen faasi on dispergoitu hydrofobiseen faasiin, (B) hydrofiili-
nen faasi käsittää biologisesti aktiivista ainetta ja (C) hyd-
rofobinen faasi sisältää maitiaishiukkasia (chylomicra) tai
20 materiaalia, josta syntyy maitiaishiukkasia in vivo. Hydrofii-
linen faasi voi sisältää biologisesti aktiivisen aineen fysio-
logisesti hyväksyttävää liuotinta, kuten vettä. Julkaisussa on
ehdotettu, että kun biologisesti aktiivista ainetta annetaan
yhdessä maitiaishiukkasten tai maitiaishiukkasten aineosien
25 kanssa, sen kohteena ovat ohutsuolen seinämän suolinukka tai
mikronukka, josta biologisesti aktiivinen aine erittyy maitiai-
seen (lacteal) ja ohutsuolen imunesteeseen ja sitten edelleen
rintakehän kanavaan (thoracic duct) ja lopulta verenkiertoon.

30 Tunnetusti maitiaishiukkaset käsittävät lipidi/kolesteroli-yti-
men tai -matriisin, jota ympäröivä membraani käsittää fosfoli-
pidiä olevan yksikerroksen, johon on kiinnittynyt proteiineja
(Redgrave julkaisussa Gastrointestinal Physiology IV, Interna-
tional Review of Physiology, vol. 28, 103-130, Young, J.A.,
35 toim., University Park Press, Baltimore, 1983). Näin ollen voi-
daan nähdä, että tässä tekniikan nykytasoa kuvaavassa eurooppa-
laisessa patenttihakemuksessa biologisesti aktiivinen aine on
sisällytetty hydrofobiseen ytimeen.

Tässä keksinnössä ongelmat, jotka liittyvät biologisesti aktiivisten yhdisteiden, erityisesti proteiinien antamiseen suun (tai peräsuolen) kautta, pyritään ratkaisemaan toisella tavalla. On todettu, että proteiiniyhdisteitä, joista voidaan mainita insuliini (olipa se peräisin naudasta, siasta, ihmisestä tai muusta lähteestä), kasvuhormoni (olipa se peräisin ihmisestä tai muusta lähteestä), kalsitoniini (olipa se peräisin lohesta tai muusta lähteestä), erytropoietiini (olipa se peräisin ihmisestä tai muusta lähteestä), näihin kuitenkin rajoittumatta, voidaan antaa suun kautta yhteen tai useampaan fosfolipidiin tai muuhun sellaiseen yhdisteeseen liitettynä, joka osallistuu lesitiinin muodostukseen ("lesitiinin esiaste"). Tätä yhdistelmää voidaan kutsua "fosfolipo-proteiiniksi" (kuten "fosfolipo-insuliiniksi"), kun tämä biologisesti aktiivinen yhdiste on proteiinipohjainen.

Oheisen keksinnön ensimmäisen piirteen mukaisesti on saatu aikaan menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi, joka koostumus käsittää proteiinipohjaista tai muuten biologisesti aktiivista yhdistettä sekä lesitiiniä tai lesitiinin esiastetta.

Keksinnön oleelliset tunnusmerkit on esitetty oheisissa patenttivaatimuksissa.

25

Tämä proteiiniyhdiste voidaan korvata (tai sitä voidaan täydentää) millä tahansa muulla biologisesti aktiivisella yhdisteellä. Tällaisissa tapauksissa vaikutustavan uskotaan olevan analoginen edellä kuvattuun verrattuna. Biologisesti aktiivinen yhdiste ja lesitiinin esiaste on yleensä liitetty toisiinsa jollain tavalla.

Lesitiini kykenee yhdentymään maitiaishiukkasiin, erityisesti niiden kalvoihin. Oheisen keksinnön puitteissa voidaan käyttää myös muita yhdisteitä tai niiden esiasteita, jotka kykenevät samanlaiseen yhdentymiseen. Tässä kuvauksessa lesitiinin tai

35

sen esiasteiden tarkastelun voidaan katsoa pätevän, tarpeellisin muutoksin, myös tähän yleisempään yhdisteluokkaan.

Lesitiinin esiaste kykenee muodostamaan lesitiiniä ihmisen tai
5 muiden eläinten suoliston epiteelissä, ja tällä tavalla proteiiniyhdiste liittyy muodostuneeseen lesitiiniin lesitiini-proteiini-kompleksiksi (kuten lesitiini-insuliini-kompleksiksi). Tällä tavalla suoliston epiteelissä muodostunut lesitiini voi muodostaa maitiaishiukkasten pintakalvon ja peittää jopa 80 %
10 apolipoproteiinien kuten A-, B-, C- ja E-apoproteiinin pinnasta. Täten, valinnaisesti, sopivia, fosfolipo-proteiini-kompleksin absorptiota edistäviä aineita käyttäen kompleksi voi imeytyä suoliston epiteeliin; sitten syntetisoituu lesitiiniä (ja kompleksi muuttuu lesitiini-proteiini-kompleksiksi); ja lesitiini
15 tiini voi sitten peittää maitiaishiukkasytimiä sekä maitiaishiukkasiin kiinnittyneitä apoproteiineja. Tämän jälkeen lesitiini voi vapautua imusuoniin, kanavoitua rintakanavaan (ja ne lesitiini-proteiini-kompleksit, jotka ovat edelleen kiinnittyneinä maitiaishiukkasiin, voivat muodostaa osan jäljelle jää-
20 neistä maitiaishiukkasista), ja kanavoitua edelleen maksaan ja vapautua sieltä verenkiertoon. Lesitiinin uskotaan kantavan proteiinin tällä tavalla yleiseen kiertojärjestelmään.

Lesitiiniä voi muodostua in vivo monia eri reittejä pitkin.
25 Eräitä tällaisia reittejä ovat seuraavat: Ensinnäkin, α -glyserolipolku on käyttökelpoinen; tässä polussa esiasteena on sn-glyseroli-3-fosfaatti, samoin kuin fosfatidaatit ja diglyseridit. Toiseksi, lesitiiniä voi syntetisoitua koliinifosfotransferaasin vaikutuksesta; tämän reitin esiasteina toimivat kolii-
30 ni, fosfokoliini, kytidiini-difosfokoliini ja diglyseridit. Kolmanneksi, lesitiiniä voi syntetisoitua muista fosfatideista kuten fosfotidyyli-etanoliamiinista. Neljänneksi, lesitiiniä voi syntetisoitua triglyseridistä ja tosiaankin lesitiinin hajoamistuotteista tai vaihtoesteröintiprosesseissa.

35

Käsite "biologisesti aktiivinen aine" kattaa erityisesti farmaceuttisesti aktiiviset proteiinimateriaalit. Tämä proteiinima-

terიაალი voi olla puhdas proteiini tai se voi käsittää proteiinia samalla tavalla kuin glykoproteiini käsittää sekä proteiinia että sokerijäännöksiä. Tällainen materiaali voi olla käyttökelpoista ihmis- tai eläinlääketieteessä joko siten, että
5 sillä voidaan hoitaa tai estää ennakolta sairauksia tai niiden oireita, tai siten, että se on käyttökelpoista kosmeettisissa tai diagnostisissa sovellutuksissa. Esimerkkeinä biologisista proteiinimateriaaleista, joista voidaan tehdä suun tai peräsuolen kautta annettavia valmisteita oheisen keksinnön mukaisesti,
10 voidaan mainita proteiinihormonit kuten insuliini, kalsitoniini ja kasvuhormoni, jotka voivat olla peräisin ihmisestä tai eläimestä, tai jotka on voitu valmistaa osittain tai täydellisesti synteettisesti, erytropoietiini tai hematopoietiini, plasminogeeniaktivaattorit ja niiden esiasteet kuten t-PA, urokinaasi,
15 pro-urokinaasi ja streptokinaasi, interferonit, mukaan lukien ihmisen alfa-, beeta- ja gamma-interferoni, interleukiinit, mukaan lukien IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 ja IL-5, pesäkkeitä stimuloivat tekijät kuten G-CSF ja GM-CSF sekä esimerkiksi sellaiset veritekijät kuten Tekijä VIII.

20

Korostettakoon kuitenkin, ettei keksintö rajoitu valmisteiden muodostamiseen proteiiniyhdisteistä; monia muita kuin proteiinipohjaisia farmaseuttisia aineita voidaan sisällyttää onnistuneesti oheisen keksinnön mukaiseen valmisteeseen. Tällaiseen
25 valmisteeseen voidaan sisällyttää sopivalla tavalla esimerkiksi ei-steroidisia tulehduslääkkeitä (NSAID) kuten indometasiinia ja muita aineita, gentamysiini mukaan lukien.

Ottaen kuitenkin huomioon se, että valmisteeseen sisällytetään
30 sekä biologisesti aktiivista ainetta että esimerkiksi oheisen keksinnön mukaisia fosfolipidejä, on toivottavaa, ettei aktiivinen aine ole sellaista, joka muodostaa palautumattomasti kovalenttisen sidoksen fosfolipidin tai valmisteessa läsnäolevien muiden komponenttien kanssa, koska tällainen palautumaton kovalenttinen sidos saattaa joissain tapauksissa häiritä biologista
35 aktiivisuutta ja/tai saatavuutta. Vaikka näin saattaakin olla, niin kuitenkin ei uskota, että keksinnön mukaisissa valmis-

teissa esiintyisi tässä suhteessa ongelmia edellä mainittuja aktiivisia molekyylejä käytettäessä. Aktiivisen yhdisteen ja lesitiinin tai esiasteen välinen liitos voi olla luonteeltaan ei-kovalenttinen kompleksiksi. Tällainen kompleksiksi voi käsittää
5 vetysidoksia, van der Waals'in vuorovaikutuksia, ionisia vuorovaikutuksia ja/tai lipidi-lipidi-vuorovaikutuksia.

Vaikka ei oletetakaan, että oheisen keksinnön mukaisesti valmistettiin sisällytettävien, biologisesti aktiivisten aineiden
10 molekyylirikkoa pitäisi rajoittaa jollakin tavalla, niin kuitenkin edellä keksintöä rajoittamattomina esimerkkeinä mainittujen, biologisesti aktiivisten aineiden perusteella on ilmeistä, että keksintö soveltuu erityisen hyvin valmisteiden tekemiseksi makromolekyyleistä. Näiden makromolekyylien molekyylipaino voi
15 olla noin 1-5 kDa tai enemmän, noin 10 kDa tai enemmän tai jopa noin 15 kDa tai enemmän. Jälleen, vaikkei oletetakaan, että biologisesti aktiivisen aineen hydrofiilisyyden tai hydrofobisuus (lipofiilisyyden) olisi erityisen kriittistä, niin kuitenkin valmisteita voidaan tehdä vaivattomasti keksinnön mukaisesti hydrofiilisista molekyyleistä kuten insuliinista, kalsitoniinista
20 (erityisesti lohen kalsitoniinista) sekä kasvuhormoneista tai somatotropiinista (erityisesti sian somatotropiinista), jotka kaikki (erityisesti lohen kalsitoniini) ovat niin hydrofiilisiä, että ne ovat myös hygroskooppisia.

25

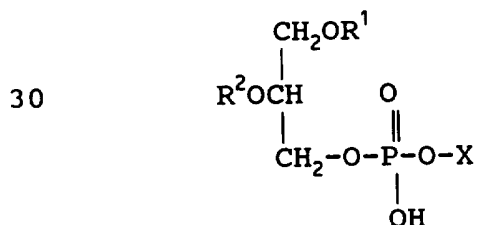
Keksinnön mukaisessa valmisteessa läsnäoleva biologisesti aktiivisen aineen määrä riippuu luonnollisestikin tämän aineen luonteesta, ja tämä määrä on sellainen, että valmisteita voidaan käytännössä määrätä tarkoituksenmukaisina annettavina määrinä.
30 Tämä huomioon ottaen keksinnön mukaiset valmisteet voivat sisältää biologisesti aktiivista ainetta 1 $\mu\text{g:n}$, 10 $\mu\text{g:n}$, 0,1 mg:n tai 1 mg:n suuruisista määristä 1 g:n , 10 g:n tai 100 g:n suuruisiin määriin, litraa kohden.

35 Oheisessa keksinnössä käytetään fosfolipidien tai muiden sellaisten yhdisteiden johdannaisia tai olennaisia osia tai ryhmiä, jotka yhdisteet voivat toimia esiasteina, kun lesitiiniä

syntetisoituu in vivo ihmisen tai muun eläimen suoliston epi-
teelissä; lesitiini muodostaa puolestaan vähintään osan maiti-
aishiukkasytimen kalvosta. Oletetaan, että antamisen olosuh-
teissa tähän kalvoon yhdentyvät yhdisteet saavat aikaan niihin
5 liittyneen, biologisesti aktiivisen aineen yhdentymisen esimer-
kiksi maitiaishiukkasydintä peittävään lesitiinikalvoon; tämä
kalvo tai membraani koostuu pääasiassa fosfolipidistä, kuten
edellä on esitetty. Koska maitiaishiukkasen kalvot sisältävät
runsaasti fosfolipidiä, niin biologisesti aktiivisia aineita
10 voidaan sisällyttää valmisteisiin oheisen keksinnön mukaisesti
erityisen sopivasti yhdessä fosfolipidien kanssa.

Lesitiinin esiasteet eivät saisi olla sellaisia, että ne hei-
kentävät biologisesti aktiivista ainetta; alalla on esimerkiksi
15 todettu, että eräillä rasvahapoilla kuten oleaatilla ja stea-
raatilla voi olla haitallista vuorovaikutusta sian somatotro-
piinin kanssa, joten tiettyä rutiininomaista varovaisuutta tu-
lee noudattaa valittaessa fosfolipidejä, fosfolipidijohdannai-
sia tai muita, membraaniin yhdentymistä aikaansaavia yhdisteitä
20 tai esiasteita, joita halutaan käyttää. Tällainen valinta on
kuitenkin alan asiantuntijan kykyjen mukaista.

Fosfolipidit ovat edullisia lesitiinin esiasteita. Fosfolipidit
ovat glyseryylietriestereitä, joissa yksi funktionaalinen este-
25 riryhmä on substituoinut valinnaisesti fosforihapolla. Ohei-
sessa keksinnössä käytön kannalta edullisilla fosfolipideillä
on seuraava yleinen kaava:



35 missä sekä R^1 että R^2 tarkoittavat toisistaan riippumatta esi-
merkiksi 10, 12 tai 14-26 hiiliatomia käsittävää asyyliiryhmää,
joka on valinnaisesti substituoinut yhdellä tai useammalla

substituentilla, ja X tarkoittaa vetyatomia tai fosfolipidi-pääryhmää.

Fosfolipidi-pääryhmä voi olla mikä tahansa sellainen ryhmä,
5 joka kykenee muodostamaan fysiologisesti hyväksyttävää fosfolipidiä. Esimerkkeinä fosfolipideistä voidaan mainita:

diasyyli-fosfatidyyli-glyserolit, kuten:

10 dimyristoyyli-fosfatidyyli-glyseroli (DPMG),
dipalmitoyyli-fosfatidyyli-glyseroli (DPPG) ja
distearoyyli-fosfatidyyli-glyseroli (DSPG);

diasyyli-fosfatidyyli-koliinit, kuten:

15 dimyristoyyli-fosfatidyyli-koliini (DPMC),
dipalmitoyyli-fosfatidyyli-koliini (DPPC) ja
distearoyyli-fosfatidyyli-koliini (DSPG);

diasyyli-fosfatidihapot, kuten:

20 dimyristoyyli-fosfatidihappo (DPMA),
dipalmitoyyli-fosfatidihappo (DPPA) ja
distearoyyli-fosfatidihappo (DSPA); sekä

diasyyli-fosfatidyyli-etanoliamiinit, kuten:

25 dimyristoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiini (DPME),
dipalmitoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiini (DPPE) ja
distearoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiini (DSPE).

30 Muina esimerkkeinä voidaan mainita etanoliamiinin johdannaiset (kuten fosfatidyyli-etanoliamiini, joka on mainittu edellä, tai sefaliini), seriini (kuten fosfatidyyli-seriini) ja 3'-O-lysyyliglyseroli (kuten 3'-O-lysyyliglyseroli), näihin kuitenkin rajoittumatta.

35 Useampia kuin yksi fosfatidyyli-ryhmä on voinut kiinnittyä yhteen ainoaan fosfolipidi-pääryhmään; esimerkiksi kaksi fosfatidyyli-ryhmää on voinut kiinnittyä yhteen ainoaan glyserolijäänökseen samoin kuin difosfatidyyli-glyserolissa tai kardiolipii-

nissä. Kun X tarkoittaa vetyatomia, niin fosfolipidi on fosfatidihappo, esimerkiksi L- α -fosfatidihappo-bimyristoyyli.

Oheisessa keksinnössä käyttökelpoiset fosfolipidit voivat olla
5 synteettisiä tai luonnollisia fosfolipidejä, joko yksittäisinä
komponentteina tai kahden tai useamman komponentin seoksena.
Luonnollisten fosfolipidien näennäisesti puhtaat valmisteet
sisältävät harvoin, mikäli koskaan, vain yhtä ainoata fos-
folipidilajia, mutta tämän seikan ei kuitenkaan uskota olevan
10 kriittinen oheisen keksinnön tavoitteita ajatellen.

Erityisen edullisista fosfolipideistä voidaan mainita 1,2-di-
myristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfokoliini, joka voi olla monohydraattina,
sekä L- α -fosfatidihappo-bimyristoyyli, joka voi olla
15 natriumsuolana.

Edellä mainittujen yhdisteiden sijasta tai niiden lisäksi voidaan käyttää myös muita lesitiinin esiasteita.

20 Keksinnön mukaisissa koostumuksissa biologisesti aktiivinen aine on voinut liittyä lesitiinin esiasteeseen. Vaikkei tämän liittymisen täsmällinen luonne olekaan välttämättä kriittinen, niin kuitenkin uskotaan, että siihen saattaa osallistua ei-kovalenttisia vuorovaikutuksia, erityisesti vetysidoksia ja hydrofobista vuorovaikutusta, samankaltaisella tavalla kuin miten
25 maitiaishiukkasissa tai muissa fosfolipidikalvoissa tavanomaisesti läsnäolevat lipoproteiinit ovat sitoutuneet.

Kun läsnä on yksi tai useampia, hydrofiili/lipofiili-tasapainon
30 (HLB) suurena pitäviä pinta-aktiivisia aineita, esimerkiksi sellaisia, joiden HLB-arvo on yli 10 tai jopa enemmän kuin 14, niin biologisesti aktiivinen aine voi muodostaa yhdessä lesitiinin esiasteen kanssa hydrofiilisen kompleksin, joka kulkeutuu helposti enterosyytteihin (suolen epiteeliseinämän soluihin).
35 Enterosyyteissä lesitiinin esiaste tunnistetaan lesitiinin synteesissä käyttöä varten. Tällä tavalla esiaste ja siihen liittynyt biologisesti aktiivinen aine näyttävät välttävän ly-

sosomin ja ne muuttuvat biologisesti aktiivisesta aineesta ja kalvoon yhdentyvistä yhdisteistä (kuten lesitiinistä) muodostuvaksi kompleksiksi. Tällainen kompleksiksi voi korvata tai täydentää sitä lesitiiniä, josta muodostuva ulkokerrosmembraani peittää noin 80 % tai enemmän maitiaishiukkasytimen pinnasta.

Kiertävässä veressä pintaproteiinit ja fosfolipidit voivat vaihtua muiksi lipoproteiineiksi. Niinpä vähintään osa oheisen keksinnön avulla annetusta proteiinista voi kiertää veressä maitiaishiukkasesta erottuneena fosfolipoproteiinina, johon maitiaishiukkaseen se oli alunperin tai aikaisemmin liittynyt. Jonkin verran fosfolipoproteiinia voi vapautua kiertävään vereen vapaana ja se voi osittain kulkeutua maksaan maitiaishiukkasen jäännöksiin kiinnittyneenä. Fosfolipidi/proteiini-vaihdon nopeuteen ja voimakkuuteen voidaan vaikuttaa erilaisin tekijöin, joista voidaan mainita fosfolipidiketjun pituuden muuttaminen.

Keksinnön mukaiset valmisteet voivat myös yleensä sisältää hydrofiilista nestettä, joka tavallisesti sisältää vettä ja voi olla vettä; fysiologista tai fosfaatilla puskuroitua suolaliuosta voidaan käyttää tyydyttävällä tavalla. Läsä voi olla veteen sekoitettava liuotinta, joka esimerkiksi auttaa valmisteiden muodostamista. Näin ollen läsnä voi olla etanolia tai muuta sopivaa yksinkertaista liuotinta. Käytetyn liuottimen luonne riippuu aktiivisesta aineesta. Tämä hydrofiilinen neste voi olla veden ja liuottimen seos, esimerkiksi tilavuussuhteessa 0,5:1 - 2:1, vaikkei muun kuin vesipitoisen liuottimen läsnäolo olekaan välttämättä edullista.

30

Seuraavassa on esitetty komponenttien yleiset ja edulliset prosentuaaliset osuudet (yleisesti paino/paino-prosentteina, mutta myös paino/tilavuus-% tai jopa tilavuus/tilavuus-% ovat mahdollisia), edellyttäen kuitenkin aina, ettei osuuksien summa ole suurempi kuin 100 %:

	<u>Yleisesti</u>	<u>Edulli- sesti</u>	<u>Edulli- semmin</u>	<u>Opti- maalinen</u>
Esiaste/aktiivinen	0,1-25	1-10	2,5-8	5
Hydrofiilinen neste	10-99	50-95	65-90	89

5

Keksinnön mukaiset valmisteet voivat sisältää hydrofiilista pinta-aktiivista ainetta (esimerkiksi sellaista, jonka HLB on suurempi kuin 10). Tällä voi olla sellaista vaikutusta, joka esittää kompleksin muodostumista biologisesti aktiivisen yhdis-

10 teen ja lesitiiniesiasteen välille (erityisesti ihmisten ja muiden tiettyjen eläinten kuten sikojen suolen epiteelissä syntetisoituneen lesitiinin tai siinä läsnäolevien lesitiinin esiasteiden tapauksessa), ja/tai joka aiheuttaa tällaiselle kompleksille yleisesti hydrofiilisen luonteen. Hydrofiilista pinta-

15 aktiivista ainetta voi olla läsnä määränä, joka on korkeintaan 10 % (p/t tai t/t), edullisesti 1-5 %, tyypillisesti 1,5-4 %, esimerkiksi noin 2,4 % tai 2,5 %.

Eräs usein erittäin toivottava lisäkomponentti on proteaasi-

20 inhibiittori, joka voi olla yksi tai useampi yksittäinen proteaasi-inhibiittori. Oheisessa keksinnössä käyttökelpoiset proteaasi-inhibiittorit voidaan laajasti ottaen jakaa kahteen luokkaan. Ensimmäinen luokka muodostuu sellaisista proteaasi-inhibiittoreista, jotka rajoittavat tai estävät biologisesti ak-

25 tiivisen aineen hajoamista, mikäli tämä aine on proteiinipohjainen. Tällaisten proteaasi-inhibiittoreiden vaikutuksena on ruuansulatuskanavassa esiintyvien proteolyyttisten entsyymien kuten trypsiinin, kymotrypsiinin ja karboksipeptidaasin inhibitio. Insuliinin tapauksessa nämä proteaasi-inhibiittorit in-

30 hiboivat yleisesti insulinaaseina tunnettuja entsyymejä, joihin kuuluu trans-sulfataasi-entsyymi. Sopivia trypsiini-inhibiittorin lähteitä ovat soijapavut tai munanvalkuainen (ovomucoid). Toiseksi, mikäli keksinnön mukaisissa valmisteissa on läsnä

apoproteiinia, niin on toivottavaa lisätä proteaasi-inhibiit-

35 toreita apoproteiinin hajoamisen vähentämiseksi ennen sen pääsyä suoliston limakalvolle. Yleisesti, samankaltaisia proteaasi-inhibiittoreita voidaan käyttää kuin suojattaessa proteiini-

pohjaisia, biologisesti aktiivisia aineita, joten kumpaankin tarkoitukseen voidaan käyttää yhtä ainoata proteaasi-inhibiittoria. Proteaasi-inhibiittoreita voidaan lisätä biologisesti aktiivisen aineen ja kalvoon yhdentävän aineen tai esiasteen
5 (esimerkiksi fosfolipidien) väliseen yhdistelmään tai kompleksiin; niitä lisätään tarkoituksenmukaisesti hydrofiiliseen faasiin, mikäli läsnä on kaksi faasia. Lisättävän proteaasi-inhibiittorin määrän valinta on alan asiantuntija kykyjen mukais-
ta, tämän määrän ollessa yleensä noin 0,1 % p/t tai jopa 0,5 %
10 p/t. Aprotiniinia voidaan lisätä määränä, joka on jopa 10 miljoonaa kansainvälistä yksikköä (IU), edullisesti 0,5-5 miljoonaa IU, tyypillisesti 1,5-4 miljoonaa IU, esimerkiksi 3,0 miljoonaa IU, mutta täsmällinen käytettävä määrä voi riippua biologisesti aktiivisen aineen todellisesta aktiivisuudesta.

15

Useissa tapauksissa on edullista, että biologisesti aktiivisen aineen ja kalvoon yhdentävän aineen tai esiasteen välinen kompleksi (edullisessa suoritusmuodossa fosfolipoproteiinikompleksi) annetaan yhdessä valinnaisen mutta kuitenkin edullisen hydrofiilisen pinta-aktiivisen aineen ja proteaasi-inhibiittorin
20 kanssa lipofiilistä materiaalia sekä pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB on pieni (jonka HLB-arvo on esimerkiksi vähemmän kuin 4), sisältävään emulsioon tai mikroemulsioon suspendoituna tai sellaiseksi tehtynä. Tällainen lipofiilinen materiaali voi olla
25 (ei kuitenkaan välttämättä) sellaista materiaalia, jonka tiedetään muodostavan maitiaishiukkasia in vivo; tällaisia materiaaleja ovat esimerkiksi kolesteroli, kolesteroliesteri(t), le-
sitiini ja/tai muut fosfolipidit tai tyydyttyneet tai mono- tai polytyydyttymättömät rasvahapot (joissa on esimerkiksi 16-24
30 hiiliatomia), jotka ovat voineet valinaisesti esteröityä glyseroliesteriksi mono-, di- tai triglyseridin muodostaen, näihin
: kuitenkin rajoittumatta. Vaihtoehtoisesti, tähän olennaisesti hydrofiiliseen fosfolipoproteiiniin (tai muuhun kompleksiin)
voidaan yksinkertaisesti sekoittaa sopivia öljyjä, erityisesti
35 kasviöljyjä, esimerkiksi ketjultaan keskipitkää triglyseridiöljyjä ("medium chain triglyceride"; MCT) tai mitä tahansa muuta sopivaa öljyä sekä yhtä tai useampaa sopivaa pinta-aktiivista

ainetta, jolla on pieni HLB-arvo (esimerkiksi alle 4). Sopivista pinta-aktiivisista aineista voidaan mainita lysolesitiini-johdannaiset sekä muut olennaisesti lipofiiliset materiaalit.

5 Tämä hydrofiilinen fosfolipoproteiini (tai muu kompleksi) on voitu pinnoittaa asiannmukaisesti enterisellä pinnoitteella ja sitä voidaan antaa suun kautta. Kuitenkin kokeiden perusteella on todettu edulliseksi, että kompleksi sekoitetaan sopivaan öljyyn tai esiasteeseen aktiivisen aineen kanavoimiseksi ohut-

10 suolen suolinukkaan, josta ohutsuolesta se imeytyy suolinukan läpi ja joutuu imujärjestelmään.

Seuraavassa on esitetty lipofiilisen aineen yleiset ja edulliset prosentuaaliset osuudet (yleisesti paino/paino-prosentteina, mutta myös paino/tilavuus-% tai jopa tilavuus/tilavuus-% ovat mahdollisia), edellyttäen kuitenkin aina, ettei osuuk-

15 sien summa ole suurempi kuin 100 %:

	<u>Yleisesti</u>	<u>Edullisesti</u>	<u>Edullisemmin</u>	<u>Optimaalinen</u>
20 Kolesterolin	0,1-40	1-10	2-8	6
Lesitiini (tai muu fosfolipidi)	0,1-60	1-15	4-10	8
25 Lipofiilinen pinta-aktiivinen aine	0,1-40	3-10	4-8	6
30 Esteröitymätön rasvahappo	0-95	20-90	35-75	50
Kolesteroliesteri	0-10	0-5		

35 Läsä voi olla jonkin verran lipofiiliseen faasiin sekoittuvaa orgaanista liuotinta, joka toimii edullisesti valmisteen tekoa helpottavana ianeena. Tämän liuottimen luonne riippuu muista

40 läsnäolevista materiaaleista. Etanoli on usein sopivaa. Liuottimen määrä voi olla esimerkiksi 5-50 % t/t, lipofiilisen faasin tilavuudesta laskien.

Kun fosfolipoproteiinista tai muusta kompleksista tehdään emulsio tai mikroemulsio lipofiilisen faasin kanssa edellä tarkastellulla tavalla (tavallisesti vesi-öljyssä järjestelmäksi), niin tällöin minkään muun aineosan läsnäolo ei ole olennaista, vaikka käytännössä tavallisesti on erittäin tarkoituksenmukais-
5 ta lisätä muitakin aineosia. Eräs valinnainen aineosa on biologisesti aktiivisen aineen stabilisaattori. Mikäli tällaista stabilisaattoria on läsnä, sen täsmällinen luonne riippuu luonnollisestikin itse tämän biologisesti aktiivisen aineen luon-
10 teesta. Olemassa on esimerkiksi lukuisia hyvin määriteltäviä insuliinin stabilisaattoreita, joita voidaan sisällyttää edullisesti oheisen keksinnön mukaisiin, insuliinia sisältäviin valmisteisiin. Esimerkkeinä voidaan mainita hydroksipropyli-
selluloosa (HPC), kalsiumsuolat sekä sitruunahappo ja sen suo-
15 lat. Kalsiumin ei tiedetä vain stabiloivan insuliinia, vaan sen edullisena lisävaikutuksena on solukalvojen huokoisuuden lisääminen, mikä helpottaa aktiivisen materiaalin pääsyä suoliston seinämän soluihin. Kun biologisesti aktiivinen aine lisätään hydrofiiliseen faasiin, niin tällöin stabilisaattori lisätään
20 edullisesti samoin tähän samaan faasiin. Stabilisaattorin läsnäoleva määrä riippuu nytkin stabilisaattorin sekä biologisesti aktiivisen aineen luonteesta; tämän määrän valinta on selvästi-
kin alan asiantuntijan kykyjen mukaista, ollen usein korkeintaan noin 1 tai 2 % p/t.

25

Eräissä tapauksissa saattaa olla toivottavaa sisällyttää emulgoinnin apuaineita, jotka voivat olla tavanomaisia, emulsioiden valmistuksessa käytettyjä emulgoinnin apuaineita. Eräät emulgoinnin apuaineet ovat pinta-aktiivisia aineita, ja tähän tar-
30 koitukseen käytettäviä pinta-aktiivisia aineita eivät rajoita mitkään tietyt HLB-arvot. Käyttökelpoisista emulgoinnin apuaineista voidaan mainita kolesteroli, steariinihappo, natrium-
: stearaatti, palmitiinihappo, natriumpalmitaatti, öljyhappo, natriumoleaatti, glyseerylimono-oleaatti, polyoksietylenei-50-
35 stearaatti, polyoksietylenei-40-stearaatti, polysorbaatti 20, polysorbaatti 40, polysorbaatti 60, polysorbaatti 80, propyleeniglykoli-diasetaatti sekä propyleeniglykoli-monostearaatti.

Emulgoinnin apuaineita voi olla läsnä joko lipofiilisessa tai hydrofiilisessa faasissa tai niissä kummassakin. Toivottaessa läsnäolevan emulgoinnin apuaineen määrä on sellainen, joka riittää tuottamaan stabiilin valmisteeseen. Alan asiantuntija kykenee määrittämään täsmällisen määrän; yleisesti, näitä apuaineita voidaan käyttää määrinä, jotka ovat 0-15 % p/t, esimerkiksi 0,1-5 % p/t koko valmisteesta laskien. Saattaa olla asianmukaista, että hydrofiilinen faasi sisältää samaa tai eri pinta-aktiivista ainetta esimerkiksi 1-5 %. Erityisen asianmukaiseksi ollaan todettu polysorbaatti 80:n lisääminen lipofiiliseen faasiin ja polyoksietylenei-40-stearaatin lisääminen hydrofiiliseen faasiin.

Keksinnön mukaiset valmisteet voivat sisältää erilaisia säilöntäaineita. Kaksi erityisen käyttökelpoista säilöntäainetyyppiä ovat antioksidantit ja mikrobeja torjuvat aineet. Antioksidantit ovat erityisen käyttökelpoisia, koska eräät keksinnön mukaisissa valmisteissa käyttökelpoiset yhdisteet ovat taipuvaisia hajoamaan itsehapettumisen seurauksena. Vaikka tämä ongelma voidaan välttää tekemällä oheisen keksinnön mukaiset valmisteet inertissä ilmakehässä, kuten työssä, niin tällainen menettelytapa on kuitenkin sangen hankala ja kallis, joten kemiallisten antioksidanttien lisääminen on usein edullista. Sopivista, farmaseuttisesti hyväksyttävistä antioksidanteista voidaan mainita propyyliigallaatti, butyloitu hydroksianisoli, butyloitu hydroksitolueeni, askorbiinihappo tai natriumaskorbaatti, DL- tai D- α - tokoferoli ja DL- tai D- α - tokoferyyliasettaatti. Mahdollisesti läsnäolevaa antioksidanttia voidaan lisätä keksinnön mukaisiin valmisteisiin määränä, joka on korkeintaan esimerkiksi 0,1 % (p/t), edullisesti 0,0001-0,3 %. Antioksidantille sopivin faasi riippuu luonnollisestikin antioksidantin luonteesta. Yleensä lipofiiliset antioksidantit kuten α -tokoferoli voidaan sisällyttää asianmukaisesti hydrofiiliseen faasiin, kun taas hydrofiiliset antioksidantit kuten askorbiinihappo voidaan sisällyttää hydrofiiliseen faasiin.

Keksinnön mukaisiin valmisteisiin voidaan lisätä seesamöljyä, edullisesti jalostettuna kemiallisena öljynä. Sesamöljyn lisäetuna on se, että se parantaa valmisteiden flavoria, jolloin potilaan on helpompi hyväksyä valmiste. Seesamöljyä voi olla
5 läsnä määränä, joka on 0,1-3 % p/t, edullisesti 5-20 % p/t lo-
pullisesta nestemäisestä valmisteesta laskien; se lisätään ta-
vallisesti lipofiiliseen faasiin.

Esimerkkeinä käyttökelpoisista, mikrobeja torjuvista aineista,
10 joiden määrä on yleensä korkeintaan noin 3 % p/t, edullisesti
noin 0,5-2,5 % koko valmisteesta laskien, voidaan mainita me-
tyyliparabeeni, etyyliiparabeeni, propyyliiparabeeni, butyyliipa-
rabeeni, fenoli, dehydroetikkahappo, fenyylietyylialkoholi,
natriumbentsoaatti, sorbiinihappo, tymoli, timerosaali, nat-
15 riumdehydroasettaatti, bentsyylialkoholi, kresoli, p-kloori-m-
kresoli, klooributanoli, fenyylielohopea(2)asettaatti, fenyyli-
elohopea(2)boraatti, fenyylielohopea(2)nitraatti ja bentsyyli-
alkoniumkloridi. Mikrobeja torjuvia aineita voidaan lisätä kum-
paan tahansa faasiin tarvittaessa tai mikäli se on edullista.

20

Käytännöllistä tai tarkoituksenmukaista, ei kuitenkaan olen-
naista, saattaa olla, että fosfolipoproteiinin tai muiden komp-
leksien imeytymistä imujärjestelmään parannetaan ihmisissä tai
tietyissä muissa lajeissa, kun keksinnön mukaiset valmisteet
25 ovat kaksi faasia käsittävässä muodossa. Keksinnön mukaisia,
kaksi faasia käsittäviä järjestelmiä ovat esimerkiksi vesi-öl-
jyssä (eli hydrofiili-lipofiilissa), vesi-öljyssä-vedessä, öl-
jy-vedessä ja öljy-vedessä-öljyssä järjestelmät.

30 Kaksi faasia käsittävät järjestelmät voidaan yleensä valmistaa
sekoittamalla hydrofiilinen faasi ja lipofiilinen faasi huolel-
lisesti keskenään. Keksinnön mukaiset, kaksi faasia käsittävät
järjestelmät voivat olla emulsioita tai mikroemulsioita. Hydro-
fiilisen faasin ja lipofiilisen faasin välinen tilavuus:tila-
35 vuus-suhde on yleensä alueella 0,2-1 - 5:1, tyypillisesti 0,5:1
- 2:1.

Emulsioiden tai mikroemulsioiden muodostamiseen tarvitaan joskus kahta erilaista pinta-aktiivista ainetta, joista yksi on hydrofiilinen ja sillä on suuri hydrofiili-lipofiili-tasapaino (HLB), ja joista toinen on lipofiilisempi (kuvattu edellä) ja sen HLB on pieni. Oheisessa keksinnössä käyttökelpoisilla, mahdollisesti läsnäolevilla hydrofiilillä pinta-aktiivisilla aineilla on suuri HLB-arvo, ollen vähintään 10, tai hyvin suuri, vähintään 17 oleva HLB-arvo, tämän HLB-arvon ollessa mahdollisesti lähes 20. Keksinnössä käytetyillä lipofiilillä pinta-aktiivisilla aineilla on pieni HLB-arvo, esimerkiksi 10. Edullisessa tapauksessa lipofiilisen pinta-aktiivisen aineen HLB-arvo on vähemmän kuin 7 tai jopa alle 4.

Yleisenä ohjeena voidaan todeta, että kukin keksinnön mukaisia valmisteita valmistettaessa käytetty pinta-aktiivinen aine valitaan edullisesti joko anionisiksi tai ei-ionisiksi luokitelluista pinta-aktiivisista aineista. Nämä pinta-aktiiviset aineet ovat erityisen käyttökelpoisia farmaseuttisissa järjestelmissä yhteensopivuutensa, stabiilisuutensa ja myrkyttömyytensä ansiosta. Esimerkkeinä niistä pinta-aktiivisista aineista, jotka soveltuvat oheisen keksinnön mukaisiin erilaisiin tarkoituksiin, voidaan mainita:

- pitkäketjuiset (C_{16-24}) rasvahapot kuten esim. palmitiinihappo, steariinihappo ja öljyhappo;
- 25 - pitkäketjuisten (C_{16-24}) rasvahappojen esterit kuten esim. natriumpalmitaatti, natriumstearaatti ja natriumoleaatti;
- natriumlauryylisulfaatti;
- polyetyleeniglykolin rasvahappoesterit, esim. polyetyleeniglykolimono- tai -di-stearaatti;
- 30 - propyleeniglykoli ja propyleeniglykolin rasvahappoesterit, esim. propyleeniglykoli-monostearaatti;
- glyseriini sekä rasvahapon mono- tai polyglyseridit, kuten glyseryyliimonostearaatti;
- polyoksietyleenirahvahappoesterit, -eetterit sekä -aminit, kuten polyoksietyleenimono- ja -distearaatti ja polyoksietyleenilauryylietteri;
- 35

- polyoksietyleenisorbitaaniesterit, kuten polyoksietyleenisorbitaani-monolauraatti, -monopalmitaatti, -monostearaatti tai -mono-oleaatti;
- polyoksietyleenialkyylifenolit ja alkyylifenyylietterit;
- 5 - polyoksietyleeni-risiiniöljy;
- sorbitaani-rasvahappoesterit;
- polysorbaatit; stearyyliamiini; trietanoliamiini-oleaatti;
- kasviöljyt, esim. seesamöljy tai maissiöljy;
- kolesteroli; sekä
- 10 - tragakantti.

Valitut pinta-aktiiviset aineet ovat luonnollisestikin sellaisia, joiden farmaseuttinen käyttö on tällä hetkellä hyväksyttyä, ja joilla on asianmukaisen pieni LD₅₀-arvo. Seuraavassa on 15 lueteltu tiettyjä esimerkinomaisia pinta-aktiivisiä aineita sekä niiden HLB-arvo sekä LD₅₀-arvo, mikäli se on ollut tiedossa.

Esimerkkeinä pinta-aktiivisista aineista, joilla on sopivan 20 suuri HLB-arvo, voidaan mainita:

	<u>Kemiallinen luonne</u>	<u>HLB</u>	<u>LD₅₀ g/kg</u>
	Polyetyleeniglykoliesterit		
25	PEG-monostearaatti	19,1	7
	Polyoksietyloituneet glykolimonoetterit		
30	POE(23) laurylieetteri	17,0	9
	Polyoksietyloituneet rasvahapot		
	POE(40) lauriinihappo	17,9	?
35	POE(100) lauriinihappo	19	?
	POE(40) öljyhappo	17,4	?
	POE(100) öljyhappo	18,8	?
	POE(40) steariinihappo	17,8	?
	POE(50) steariinihappo	17,9	>25
40	POE(100) steariinihappo	18,8	25

Esimerkkeinä pinta-aktiivisista aineista, joilla on sopivan 45 pieni HLB-arvo, voidaan mainita:

	<u>Kemiallinen luonne</u>	<u>HLB</u>	<u>LD₅₀ g/kg</u>
	Glyseroliesterit		
5	Glyserolimono-oleaatti	3,8	?
	Polyoksietyloituneet glykoli-monoetterit		
10	POE(4) lauryylieetteri	9,5	9
	POE(2) setyyлиеetteri	5,3	22
	POE(2) stearyylieetteri	4,9	>25
	POE(2) oleyylieetteri	4,9	25
	Polyoksietyloituneet rasvahapot		
15	POE(4) lauriinihappo	9,3	?
	POE(4) oleiinihappo	7,7	?
	POE(4) steariinihappo	7,7	?
20	Sorbitaani-rasvahappoesterit		
	Sorbitaani-monolauraatti	8,6	41
	Sorbitaani-monopalmitaatti	6,7	>16
	Sorbitaani-monostearaatti	4,7	31
25	Sorbitaani-tristearaatti	2,1	>16
	Sorbitaani-mono-oleaatti	4,3	>40
	Sorbitaani-seski-oleaatti	3,7	?
	Sorbitaani-trioleaatti	1,8	>40
	Sorbitaani-monoisostearaatti	4,7	?
30	Polyoksietoksiloituneet sorbitaani-rasvaesterit		
	POE(4) sorbitaani-monostearaatti	9,6	>40
	POE(5) sorbitaani-mono-oleaatti	10,0	>37
35	Polyoksietyloitunut risiiniöljy		
	POE(10) risiiniöljy	6,3	?
	POE(10) hydrattu risiiniöljy	6,3	?
40	Poloksameerit		
	POE(7) - POP(17) (L42)	8	?
	POE(4) - POP(23) (L61)	3	?
45	POE(10) - POP(23) (L62)	7	?
	POE(27) - POP(23) (L64)	7	?
	POE(6) - POP(30) (L81)	2	?
	POE(19) - POP(37) (L91)	5,5	?
	POE(8) - POP(43) (L101)	1	?
50	POE(32) - POP(43) (P103)	9	?
	POE(10) - POP(53) (L121)	0,5	?

:

Huomattakoon, että pinta-aktiivisten aineiden seoksia voidaan käyttää usein vain yhden pinta-aktiivisen aineen sijasta oheisessa keksinnössä. Esimerkiksi, vain yhden hydrofiilisen pinta-aktiivisen aineen asemesta voitaisiin käyttää kahden tai useamman suhteellisen hydrofiilisen pinta-aktiivisen aineen seosta; seoksen tehollisen HLB-arvon tulisi olla kuitenkin suurempi kuin 10. "Tehollisella HLB-arvolla" tarkoitetaan sitä, että hydrofiili-lipofiili-tasapaino tässä pinta-aktiivisten aineiden seoksessa tulisi vastata vain yhtä pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB on suurempi kuin 10. Samoin, lipofiilisten pinta-aktiivisten aineiden seoksia voidaan käyttää vain yhden lipofiilisen pinta-aktiivisen aineen sijasta. Nytkin, lipofiilisten pinta-aktiivisten aineiden tehollisen HBL-arvon tulisi olla alle 10.

15

Oheisen keksinnön mukaisissa valmisteissa käytetyn pinta-aktiivisen aineen määrän valinta jätetään alan asiantuntijan tehtäväksi. Luonnollisestikin, kussakin tapauksessa täsmälliset optimimäärät riippuvat suuresti käytettyjen pinta-aktiivisten aineiden täsmällisestä luonteesta sekä siitä, mitä muita aineosia valmisteissa on läsnä. Yleisenä suuntaviittana voidaan kuitenkin esittää, että mikäli hydrofiilistä pinta-aktiivista ainetta on läsnä, sen määrä on yleensä alueella (valmisteen kokonaistilavuudesta laskien) 0,1-50 g litrassa, edullisesti 0,5-25 g/l, alueella 1-10 g/l olevan määrän ollessa usein optimaalinen. Lipofiilistä pinta-aktiivista ainetta on tarkasteltu edellä mikroemulsion öljyfaasin yhteydessä. Sitä on yleensä läsnä määränä, joka on alueella 0,1-100 g/l, alueella 0,5-50 g/l olevan määrän ollessa edullinen ja alueella 2-25 g/l olevan määrän ollessa usein optimaalinen, näidenkin lukuarvojen perusteessa valmisteen kokonaistilavuuteen.

Keksinnön mukaiset valmisteet voidaan useimmiten valmistaa sekoittamalla aineosat keskenään. Keksinnön toisen piirteen mukaisesti keksinnössä sadaan näin ollen aikaan menetelmä edellä kuvatun koostumuksen valmistamiseksi, jossa menetelmässä koostumuksen aineosat sekoitetaan toisiinsa.

Yleensä on edullista, että aktiivinen (tavallisesti proteiini-pohjainen) yhdiste ja lesitiinin esiaste sekoitetaan ensin. Tämä tekee mahdolliseksi "fosfolipo-proteiini"-kompleksin muodostumisen edullisissa suoritusmuodoissa.

5

Kuten edellä on tarkasteltu, eräät keksinnön mukaiset koostumukset käsittävät kaksi faasia. Edullinen menetelmä näiden koostumusten valmistamiseksi käsittää vaiheet, joissa:

- (i) aikaan saadaan hydrofiilinen faasi, joka käsittää biologisesti aktiivista ainetta ja lesitiinin esiastetta; sekä
- (ii) muodostetaan kaksi faasia käsittävä järjestelmä, jossa on hydrofiilinen faasi, valinnaisesti yhteen tai useampaan imeytymistä parantavaan aineeseen yhdistettynä.

15

Tiettyjen emulsioiden ja mikroemulsioiden luontaisesta termodynaamisesta stabiilisuudesta johtuen keksinnön mukaisia neste-mäisiä valmisteita voidaan valmistaa yksinkertaisesti sekoittamalla hydrofiilinen ja lipofiilinen faasi keskenään, jotka faasit voidaan puolestaan valmistaa sekoittamalla kulloinkin niiden aineosat keskenään. Kuitenkin kineettisen tarkastelun perusteella voidaan olettaa, että käytännössä on syytä toteuttaa tiettyjä vaiheita keksinnön mukaisten, emulsiona tai mikro-

emulsiona olevien valmisteiden nopean ja tehokkaan muodostumisen takaamiseksi. Erityisesti, sinä aikana, kun hydrofiilinen ja lipofiilinen faasi lisätään toisiinsa, tai tämän lisäyksen jälkeen, mikroemulsio voidaan muodostaa nopeasti käyttämällä mikronesteytintä, ja emulsio voidaan valmistaa käyttämällä sopivaa laitetta, jolla saadaan aikaan huolellinen sekoittuminen.

25
30
: Huomattakoon, että eräät keksinnön mukaiset valmisteet, erityisesti kaksi faasia käsittävät valmisteet ovat todennäköisesti nesteitä. Ne voidaan kuitenkin muuntaa kiinteään, jauhemaiseen muotoon tavanomaisin menetelmin. Yleisesti, nestemäinen muoto voidaan pinnoittaa kiinteiden jauhemaisten kantajien päälle käyttäen apuna leijupetiä tai vastaavaa laitetta (kuten SPIR-

35

A-FLOW-laitetta). (Nimitys SPIR-A-FLOW on tavaramerkki.) Tästä toimenpiteestä satava jauhe tai rakeet voidaan pakata kovagelatiinikapseleihin, jotka voidaan toivottaessa pinnoittaa enterisellä pinnoitteella. Vaihtoehtoisesti, tuloksena oleva jauhe
5 tai rakeet voidaan tehdä rakeiksi, joiden koko on noin 1-2 mm, ja jotka voidaan tämän jälkeen pinnoittaa enterisellä pinnoitteella ja laittaa sitten kovagelatiinikapseleihin. Vaihtoehtoisesti, nestemäinen valmiste voidaan pakata pehmeisiin gelatiinikapseleihin, jotka voidaan toivottaessa pinnoittaa enterisellä pinnoitteella, mikäli se on kannattavaa. Sopivia enterisiä
10 pinnoitemateriaaleja on kuvattu esimerkiksi teoksessa "Remington's Pharmaceutical Sciences", 15. Laitos, sivut 1614-1615 (1975); 2. Laitos, sivut 116-117, 371-374 (1976); sekä "Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis", 4. Laitos, Nide 7a
15 (Springer Verlag 1971), sivut 739-742 sekä 776-778.

Näin ollen keksinnön mukaisia valmisteita voidaan antaa suun kautta, kuitenkin hyvin erilaisina muotoina, kuten nesteinä, pehmeänä gelatiinikapselina, kovana gelatiinikapselina, puristettuna tablettina (joka on voitu myös pinnoittaa enterisesti)
20 sekä muulla tavoin. Edelleen, suuret plasmapitoisuudet sekä suuret pitoisuudet oletetuissa kohdereseptoreissa osoittavat, että keksinnön mukaisesti annettujen, biologisesti aktiivisten aineiden biologinen saatavuus on suuri ja että aktiivinen aine
25 on biologisesti aktiivista.

Peräsuolen kautta annettaessa näitä nestemäisiä tai kiinteitä valmisteita voidaan antaa peräruiskeena tai peräpuikkona. Peräpuikon pohja on voitu tehdä kaakaovoista tai mistä tahansa
30 muusta sopivasta materiaalista.

Edelleen oheisen keksinnön erään muun piirteen mukaisesti aikaan saadaan menetelmä ihmisen tai muiden eläinten hoitamiseksi siten, että kohteelle annetaan suun tai peräsuolen kautta keksinnön ensimmäisen piirteen mukaista valmistetta. Keksintö
35 kohdistuu erityisesti sokeritaudin hoitoon antamalla potilaalle

peräsuolen tai edullisesti suun kautta keksinnön mukaista valmistetta, jossa biologisesti aktiivinen aine on insuliini.

5 Keksinnön kohteena on myös keksinnön ensimmäisen piirteen mukaisissa valmisteissa läsnäolevien aineosien käyttö suun tai peräsuolen kautta annettavan valmisteeseen valmistamiseksi biologisesti aktiivisen aineen avulla hoidettavissa tai hallittavissa olevien häiriöiden hoitamiseksi tai ennaltaehkäisemiseksi.

10 Erityisesti, insuliinia voidaan käyttää sokeritaudin hoitoon tai hallitsemiseen tarkoitettun valmisteeseen valmistamiseksi. Lohen kalsitoniinia voidaan käyttää voimakkaiden luumuutosten (esimerkiksi luissa esiintyvän Paget'in sairauden) sekä pahanlaatuisiin häiriöihin sekä luukatoon (osteoporosis) liittyvän
15 akuutin veren liiallisen kalsiumpitoisuuden (hypercalcaemia) hoitoon. Erytropoietiinia voidaan käyttää hoidettaessa anemiaa, joka johtuu joko elimistön ulkopuolisen munuaisdialyysilaitteen pitkäaikaisesta käytöstä tai syövän hoitoon käytetyistä kemo-
20 terapia-aineista tai muista syistä. Sian somatotropiinia voidaan antaa sioille porsaiden kasvuajan lyhentämiseksi sekä mahdollisesti selän rasvakerroksen paksuuden pienentämiseksi. Ihmisen kasvuhormonia voidaan käyttää hoidettaessa lapsia, joiden kasvunopeus on hidastunut.

25 Keksintöä kuvataan seuraavassa lukuisilla, keksintöä rajoittamattomilla esimerkeillä.

Esimerkki 1

30 Tässä esimerkissä insuliini on biologisesti aktiivinen aineosa ja esimerkissä tehdään valmiste, joka sisältää fosfolipo-insuliini-kompleksin.
:

35 Naudan insuliiniin (2-20 mg kiteistä tai jauhemaista naudan insuliinia, jonka aktiivisuus on noin 22-26 IU/mg) lisätään huoneen lämpötilassa 1,0-3,0 g soijapavun lesitiiniä, munankeltau-
tuisen lesitiiniä, L- α -fosfatidihappo-bimyristoyyliä (natrium-
:

suola) ja/tai 1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfokoliini-monohydraattia ja liuotetaan joko 0,9 % bentsyylialkoholiin tai 0,9 % natriumkloridiin (150 ml) aprotiniinin (400 mg) läsnäollessa (3 000 000 Kallikreiini-inaktivaattoriyksikön läsnäollessa), minkä jälkeen pH asetetaan arvoon 2,3 sitruunahappoliuoksella huoneen lämpötilassa. Edellä saatuun "fosfolipidi-insuliini"-yhdisteeseen lisätään ei-ionista pinta-aktiivista ainetta, edullisesti polyoksi-40-stearaattia (4 g).

- 10 Edellä saatu fosfolipo-insuliini-liuos lisätään hitaasti huoneen lämpötilassa varovaisesti ja tasaisesti sekoittaen öljyfaasiliuokseen, joka käsittää esi-maitiaishiukkaskomplekseja (jotka ovat fosfatidyylikoliinia; mono-, di- ja/tai triglyseridiä; kolesterolia ja muita komponentteja käsittäviä komplekseja), ei-ionista pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB-arvo on vähemmän kuin 4,0, sekä yhtä tai useampaa antioksidanttia.

Edellä saatu "vesi-öljyssä"-emulsio johdetaan mikronesteyttimen läpi kaksi kertaa peräkkäin, alueella 5-10 °C olevassa lämpötilassa, nesteyttimen paineen ollessa 100 000 psi (noin 6895 bar) tai enemmän. Tällä tavalla valmistettiin fosfolipo-insuliini-kompleksin "vesi-öljyssä"-mikroemulsio. Kulloinkin 400 ml tätä mikroemulsiota sisältää seuraavat aineosat:

	400 millilitrassa <u>mikroemulsiota</u>
25 <u>Kemiallinen yhdiste</u>	
Naudan insuliini	87 000 IU
Dimyristoyyli-glyseroli-fosfokoliini*	1,0 g
Aprotiniini	2 000 000 KIU
30 Polyoksi-40-stearaatti	2,9 g
Kolesteroli	11,6 g
⋮ Glyserolimono-oleaatti	10,6 g
⋮ Oleaatti	92,5 g
Polysorbaatti 80	6,8 g
35 D-alfa-tokoferoli	1,2 g
Sitruunahappo	0,9 g
Fysiologinen suolaliuos	400 millilitraksi

:

Esimerkki 2

Tässä esimerkissä biologisesti aktiivinen yhdiste on erythropoietiini (EPO) ja fosfolipo-erythropoietiini-kompleksi valmistetaan edellä esimerkissä 1 kuvatulla tavalla. Samoin puolet EPO:sta lisättiin suoraan kaksi faasia käsittävän (mikroemulsio)järjestelmän vesifaasiin. Niinpä tässä esimerkissä proteiinipohjaista yhdistettä ei ainoastaan sidottu fosfolipideihin, vaan se lisättiin myös suoraan mikroemulsiojärjestelmän vesifaasiin.

Erythropoietiinia (EPO) saatiin yhtiöstä Chugai Pharmaceutical Company, Ltd., Tokio, Japani (erä R9H05). Yhdessä näytteessä proteiinipitoisuus oli 0,936 aminohappoanalyysillä määritettynä, ja 1,018 mg RP-HPLC-analyysillä määritettynä, ja sen ominaisaktiivisuus in vivo oli 180 000 IU (fosfaattipuskuriliuoksessa, jonka pH oli 7,2). EPO-näyte jaettiin huoneen lämpötilassa kahteen puolikkaaseen. EPO-näytteen ensimmäiseen puolikkaaseen lisättiin 0,004-0,007 mg 1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-fosfokoliini-monohydraattia / 1000 IU EPO ja tuloksena saatu seos liuotettiin 50 ml:aan 0,9 % fysiologista suolaliuosta; pH asetettiin arvoon 7,3 0,1 M fosfaattipuskurilla (pH 7,8), aprotiniinin (3000-4000 IU aprotiniinia/1000-15000 IU EPO) läsnäollessa. Jäljellä oleva EPO-puolikas liuotettiin 100 ml:aan fysiologista suolaliuosta, pH asetettiin arvoon 7,3 edellä kuvatulla tavalla ja sitten aprotiniinia (kuten edellä) sekä ei-ionista pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB-arvo on enemmän kuin 7,0, kuten polyoksi-40-stearaattia lisättiin pitoisuuksina 0,0044-0,00044 mg/1000 IU EPO; edellä saatuun liuokseen voidaan liuottaa huoneen lämpötilassa emulsion stabilisaattoreita ja viskositeettia suurentavia aineita kuten hydroksipropyylisululoosaa-SL.

Fosfolipo-EPO-kompleksia ja EPO:a sisältävä "vesifaasi-liuos" lisätään hitaasti, huoneen lämpötilassa varovaisesti ja jatkuvasti sekoittaen, öljyfaasi-liuokseen, joka sisältää kolesterolia, lesitiiniä, glyseroli-mono-oleaattia (ei-ioninen pinta-

aktiivinen aine, jonka HLB-arvo on alle 4,0) sekä antioksidantteja.

Edellä mainittu vesi-öljyssä-emulsio johdettiin mikronesteytys-
5 emulgointilaitteen läpi kertaalleen kylmässä. Tuloksena saadun
V/Ö EPO-mikroemulsion koostumus, EPO:n jokaista 1000 IU:ta kohden,
voi olla seuraava:

	<u>Kemikaali</u>	<u>mg/1000 IU EPO</u>
10	EPO (erä R9H05)	1000 IU
	1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli- fosfokoliini-monohydraatti	0,0056
	Hydroksipropyyliselluloosa-SL	0,880
	Polyoksi-40-stearaatti	0,440
15	Aprotiniini	3000 KIU
	Kolesteroli	1,880
	Lesitiini, munankeltuainen	3,800
	Glyserolimono-oleaatti	1,680
	D-alfa-tokoferoli	1,180
20	Öljyhappo	15,000
	Tween-80	1,06
	Etanoli	7,00*

(* haihdutetaan suurimmaksi osaksi).

25 **Esimerkki 3**

Tässä esimerkissä oheisen keksinnön mukaisesti valmistettiin fosfolipo-(sian somatotropiini)-kompleksi (pST-kompleksi) ja valmiste.

30

Kiteisenä jauheena olevaa sian somatotropiinia (pST) (pST erän
no. 7368C-25Q) saatiin yhtiöstä American Cyanamid Company, Agricultural Research Division, Princeton, New Jersey, USA. pST lisätään huoneen lämpötilassa 0,9 % suolaliuokseen, joka sisältää fosfolipidejä, kuten esimerkiksi 1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfokoliini-monohydraattia, L-alfa-fosfatidihappo-bimyristoyyliä (natriumsuola), munankeltuaisen lesitiiniä ja/-

tai soijapavun lesitiiniä. Ei-ionista pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB-arvo on yli 7,0, lisätään myös aprotiniinin, joka on trypsiini-inhibiittori, läsnäollessa tähän fysiologiseen suola-liuokseen.

5

Vesiliuoksen pH asetetaan tarvittaessa arvoon 7,2 0,1 M NaCl/10 mM natriumfosfaattipuskurissa. Edellä saatu fosfolipo-pST-liuos lisätään, huoneen lämpötilassa varovaisesti ja jatkuvasti sekoittaen, hitaasti öljyfaasi-liuokseen, joka sisältää lesitiiniä, kolesterolin ja glyseroli-mono-oleaatin seosta; tuloksena saatu seos johdetaan mikronesteytys-emulgointilaitteen läpi kahdesti kylmänä. pST-mikroemulsion kukin ml sisältää seuraavat aineet:

	<u>mg/ml pST-emulsiota</u>
15 <u>Kemikaali</u>	
Lesitiini	12,5
Kolesteroli	30,48
Soijalesitiini	187,43
1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-	1,91
20 fosfokoliini-monohydraatti	
L-alfa-fosfatidihappo-bimyristoyyli	0,095
(natriumsuola)	
Öljyhappo	242,29
D-alfa-tokoferoli	7,62
25 Glyseroli-1-mono-oleaatti	27,81
Hydroksipropyyliselluloosa-L	14,48
Polyoksi-40-stearaatti	7,62
Aprotiniini	2850 KIU
Tween-80	17,91
30 pH asetettu arvoon 7,2 natriumfosfaattipuskurilla (10 mM)	

∴ **Esimerkki 4**

Yhdistelmä-DNA-tekniikasta ihmisen kasvuhormonia (r-hGH; erä no. 35 9-08 P-508-2, 16. elokuuta 1989) saatiin yhtiöstä SmithKlein Beecham, Philadelphia. r-hGH sisällytettiin farmaseuttiseen valmistukseen yleisesti samalla tavalla kuin edellisissäkin

esimerkeissä. Erityisesti r-hGH (500 mg jauhetta) sidottiin ja liuotettiin 0,9 % NaCl-liuokseen; siihen lisättiin fosfolipidijohdannaista vedessä, vesiliukoisen fosfolipo-r-hGH-kompleksin muodostamiseksi. Se lisättiin sitten hitaasti öljyfaasiin edellä esitetyllä tavalla.

Öljyfaasi koostui munankeltuaisen lesitiinistä, kolesterolista, glyseroli-1-mono-oleaatista, d-alfa-tokoferolista, antioksidanttiliuoksesta sekä tuotteesta Tween-80. Tämä "vesi-öljyssä"-emulsio johdettiin kertaalleen mikronesteytys-homogenointilaitteen läpi kylmänä. Kukin millilitra r-hGH-mikroemulsio sisältää seuraavat aineet:

<u>Kemikaali</u>	<u>mg/ml r-hGH-emulsiota</u>
15 Lesitiini, munankeltuaisesta	37,50
L-alfa-fosfatidihappobimyristoyyli	0,095
1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfokoliini-monohydraatti	1,91
Kolesteroli	30,48
20 Glyseroli-mono-oleaatti	27,81
Öljyhappo	242,30
Tween-80	17,91
Vesi	119,05

25 pH asetettiin arvoon 7,2 10 mM natriumfosfaattipuskurilla.

(Huomattakoon, ettei trypsiini-inhibiittoria eli aprotiniinia lisätty tässä esimerkissä.)

30

35

Esimerkki 5

Tässä esimerkissä lohen kalsitoniini (jota saatiin yhtiöstä Rorer Central Research of Hirsham, Pennsylvania, USA; NPD 5 8906046 NPP 211) sidottiin munankeltuaisen lesitiiniin aprotiniinin läsnäollessa, 0,9 % suolaliuoksessa; pH asetettiin arvoon 2,0 sitruunahapolla ja askorbiinihapolla. Tällä tavalla saatiin syntymään "vesiliukoinen" fosfolipidi-sCT-aprotiniini-kompleksi, josta tehtiin vesi-öljyssä-mikroemulsio edellä esi-
10 merkissä 1 kuvatulla tavalla. Valmisteen kukin annos, joka sisälsi 100 IU sCT:tä, sisälsi seuraavat aineet:

<u>Kemikaali</u>	<u>mg/100 IU sCT</u>
Munankeltuaisen lesitiini	13,016
15 Aprotiniini	1500 IU
sCT	100 IU
Polyoksi-40-stearaatti	2,646
Hydroksipropyyliselluloosa-SL	5,026
Natriumbentsoaatti	1,587
20 Sitruunahappo	1,720
Askorbiinihappo	1,244
Kolesteroli	10,582
D-alfa-tokoferoli	0,265
Glyseroli-mono-oleaatti	9,418
25 Öljyhappo	84,127
· Tween-80	6,217
Propyyliparabeeni	0,529
Metyyliparabeeni	1,852
Seesamöljy (kemikaalilaatu)	2,646
30 Antioksidantit	1,111
Etanoli*	41,336
· Ionittomaksi tehty vesi	66,137
(* Suurin osa etanolista haihdutetaan.)	

35

:

Esimerkki 6

Esimerkin 1 mukaisen insuliinivalmisteeseen jauhemainen tai rakei-
nen muoto voidaan valmistaa sumuttamalla edellä saatu mikro-
5 emulsio farmakologisesti inertin kantajan kuten karboksimeyy-
liselluloosa-Ca:n, gelatiinin, hydroksipropyyliselluloosa-L:n,
alginiinihapon tai niiden seosten pinnalle. Tämä jauhemainen
(tai rakeinen), insuliinia sisältävä valmiste pakataan kova-
gelatiinikapseleihin, joiden kokonumero on 1, jolloin saadaan
10 seuraava koostumus:

	<u>Kemikaali</u>	<u>mg/kapseli (noin)</u>
	Naudan insuliini	4,5-6,0 IU
	Dimyristoyyli-glyseroli-fosfokoliini*	2,2
15	Aprotiniini	0,14 KIU
	Polyoksi-40-stearaatti	1,2
	Kolesteroli	5,2
	Öljyhappo	42,0
	Glyseroli-mono-oleaatti	4,8
20	Tween-80	3,1
	E-vitamiini	0,55
	Karboksimeyyliiselluloosa-Ca	90,9**
	Alginiinihappo	45,5**
	Gelatiini	22,7**
25	Hydroksipropyyliselluloosa-L	25,2**

Kukin kokoa no. 1 oleva kovagelatiinikapseli painoi 250 mg.

* 1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfokoliini-monohydraatti.

** Nämä aineet ovat ihmisessä käytännöllisesti katsoen
30 imeytymättömiä, joten ne ovat farmakologisesti inerttejä,
inaktiivisia materiaaleja.

:

35

Biologinen esimerkki A

Kliininen tutkimus suoritettiin tunnetuista sokeritautipoti-
laista muodostuvassa ryhmässä käyttäen esimerkin 1 mukaisesti
5 valmistettua, suun kautta annettavaa lääkkeen jakelujärjestel-
mää (lesitiini-naudan insuliini-aprotiniini). Esimerkin 1 val-
misteeseen todettiin alentavan systeemisesti veren sokeripitoi-
suutta seuraavalla tavalla:

10	P o t i l a s				V e r e n s o k e r i (mg %)							Tyyppi
	Tun- nus	Suku- puoli	Ikä	Pai- no*	0**	30	60	90	120	180	240	
	A	N	45	55	257	190	169	-	214	138	89	NIDDM
15	B	M	50	42	155	110	108	-	132	149	128	IDDM
	C	M	60	68	175	149	143	-	160	151	130	NIDDM
	D	N	40	56	184	-	-	130	-	173	-	IDDM
	E	M	66	61	169	-	141	-	104	-	-	NIDDM
	F	N	53	65	316	-	206	-	184	-	-	NIDDM
20	G	N	49	45	320	-	275	-	296	-	-	IDDM
	H	N	57	67	169	-	167	-	121	-	-	NIDDM
	J	M	43	70	186	-	173	-	137	-	-	IDDM
	K	M	69	66	195	-	-	136	-	154	-	NIDDM

25 * Paino = ruumiinpaino, kg; ** 0 = 0 minuuttia.

Oli mielenkiintoista todeta, että yleisesti lesitiinistä ja
naudan insuliinista tehdyn valmisteeseen veren sokeripitoisuutta
alentava vaikutus oli havaittavissa sangen nopeasti sen jäl-
30 keen, kun valmistetta oli annettu suun kautta, eli 30-90 mi-
nuuttia lääkkeen antamisen jälkeen; veren sokeripitoisuudet
nousivat jonkin verran noin 120 minuutin kuluttua tässä valmis-
teessa läsnäolleen insuliinin antamisesta suun kautta, näiden
pitoisuuksien alentuessa jälleen noin 3 tunnin tai pitemmän
35 ajanjakson jälkeen; näin ollen insuliinin tällä suun kautta
annetulla valmisteella on kaksivaiheinen vaikutus. Kun naudan
insuliinin lipofiiliset alueet sidotaan fosfolipideihin kuten
lesitiiniin, niin tällöin muodostuu fosfolipo-insuliini-komp-

leksi (joka muuttuu sitten hydrofiiliseksi yhdisteeksi ihmisen elimistössä esiintyvien muiden lipoproteiinien tavoin). Tämän fosfolipo-insuliini-kompleksin osa vaikuttaa saavan aikaan välitöntä veren sokeripitoisuuden alenemista johtuen sen välitömästä imeytymisestä ihmisen maha-suolisto-järjestelmässä; sen loppuosa (eli se osa, joka ei reagoanut ääreisten insuliinireseptoreiden kanssa) vaikuttaa ohjautuvan ja varastoituvan tilapäisesti maksaan, minkä jälkeen se vapautuu verenkiertoon aiheuttaen toisen reaktion insuliinireseptoreissa.

10

Biologinen esimerkki B

Tähän tutkimukseen osallistui kahdeksan tervettä normaalia vapaaehtoista miestä. Koehenkilöt olivat syömättä ja juomatta yön yli, minkä jälkeen 1. tutkimuspäivänä he saivat seuraavan lääkityksen:

<u>Kohde</u>	<u>Tutkittu lääkitys</u>	<u>EPO-annostus (IU)</u>
A	EPO laskimon sisäisenä infuusiona	10 IU/kg
20 B	ODDS-EPO, suun kautta	20 IU/kg
C	näennäislääke, suun kautta	0 IU/kg
D	EPO, laskimon sisäisenä infuusiona	10 IU/kg
E	ODDS-EPO, suun kautta	15 IU/kg
F	näennäislääke, suun kautta	0 IU/kg
25 G	ODDS-EPO, suun kautta	20 IU/kg
H	ODDS-EPO, suun kautta	15 IU/kg

Verinäytteet otettiin ajanhetkillä 0, 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 10 ja 14 tuntia lääkityksen jälkeen; retikulosyytit laskettiin (%) ja plasman EPO-pitoisuus määritettiin radioimmuunimäärityksellä.

Toisena ja kolmantena vuorokautena kullekin kohteelle annettiin mainitusti koodattu, tutkittava koelääkitys ajanhetkillä kello 08:00, 14:00 ja 22:00, minkä jälkeen koehenkilöt olivat syömättä ja juomatta yön yli, minkä jälkeen heidät tutkittiin uudestaan 4. koepäivänä sen jälkeen, kun he olivat saaneet edellä mainitun koelääkityksen.

Erityisesti retikulosyyttien lukumäärät olivat kasvaneet 4. koepäivänä näissä normaaleissa vapaaehtoisissa miehissä, jotka olivat saaneet suun kautta 20 IU/kg ja 15 IU/kg EPO:a sekä laskimon sisäisenä infuusiona 10 IU/kg EPO:a. Retikulosyyttien lukumäärä pieneni vähitellen näennäislääkettä saaneessa koehenkilöryhmässä.

Ensimmäisenä koepäivänä plasman RIA-mitatut EPO-pitoisuudet olivat selvästi suuremmat sekä koehenkilöissä, jotka olivat saaneet suun kautta 20 IU/kg EPO:a sekä 15 IU/kg EPO:a, että koehenkilöissä, jotka olivat saaneet laskimon sisäisenä infuusiona 10 IU/kg EPO:a. Nytkin näennäislääkettä saaneessa ryhmässä EPO-pitoisuus pieneni vähitellen kokeen keston aikana. Esimerkin 2 mukaisesta valmisteesta peräisin ollut EPO oli suun kautta annettuna tehokasta ja biologisesti saatavaa ihmisessä.

Biologinen esimerkki C

Esimerkissä 3 valmistettua valmistetta (dimyristoyylyglyserolifosfokoliini-fosfatidibimyristoyyli-pSCT-kompleksi) annettiin tajuissaan oleville sioille pohjukkaissuolen sisäisenä infuusiona. Veren sokeripitoisuus ja plasman pST-pitoisuus (radioimmuunimäärityksellä) määritettiin useaan kertaan ennen esimerkin 3 mukaisen valmisteen antamista sekä valmisteen antamisen jälkeen. Alla esitetyistä tuloksista nähdään verensokerin nousun ja RIA-mitattujen pST-pitoisuuksien suurenemisen korrelaatio.

30

35

Veren glukoosipitoisuus (CHO) ja plasman PST-pitoisuus (RIA) sioissa suun kautta annettavan PST:n pohjukkaisuolen sisäisen infuusion jälkeen

5 Aika (h)	Sika 1		Sika 2		Sika 3		Sika 4		Sika 5		Sika 6	
	PST = 0 CHO* RIA**	PST=40 ml CHO RIA	PST=40 ml CHO RIA	PST=20 ml CHO RIA	PST=10 ml CHO RIA	PST=5 ml CHO RIA	PST=5 ml CHO RIA					
-1	<2	<0,50	<2	1,86	2,2	1,51	5,65	1,63	5,2	2,67	4	1,32
0	2,7	1,82	<2	0,71	<2	1,17	6,95	2,97	6,5	1,07	5,8	1,01
1	2,5	1,75	2,2	2,48	2,2	0,98	5,8	0,89	5,3	0,49	5,5	3,85
2	2,6	1,30	3,7	0,59	5,9	8,63	5,5	0,38	5,15	1,1	5,2	2,64
3					4,5	-	4,85	-	4,85	-	3,55	-
4	2,2	0,65	3,2	3,18	3,4	2,72	4,7	6,64	5,3	1,44	5,0	1,1
5	2,5	1,64	2,9	2,14	2,2	0,77	5,1	1,67	5,35	1,10	5,5	1,2
6	2,4	1,30	3,3	2,30	3,2	1,29	5,65	1,47	5,25	0,7	5,8	3,56
8	<2	<0,50	2,6	0,9	3,4	4,81	5,34	0,85	5,15	1,71	5,35	2,48
10	10	3,9	-	3,1	4,8	1,07	7,05	5,99	6,8	1,80	6,6	2,04
12	2,2	-	<2	0,85	2,9	1,06	6,25	3,54	5,3	0,79	7,05	2,49
14	2,9	-	2,5	2,39	2,5	4,03	7,55	0,82	7,05	2,14	8,25	1,11
24	-	-	-	0,71	-	4,29	6,75	0,84	6,1	0,91	7,15	3,49
20 36					7,35	0,93	8,45	1,45	8,9	1,06		

* CHO = veren glukoositaso (mmol/l)

** RIA = RIA-määrityksellä mitattu plasman PST-pitoisuus (ng/ml)

Biologinen esimerkki D

Suun kautta annettavan r-hGH-valmisteen kliininen bioaktiivisuus (mitattuna suun kautta annetun r-hGH-valmisteen aiheuttamina muutoksina veren sokeripitoisuudessa) ja biologinen saatavuus selvitettiin yhdeksän nuoren, terveen vapaaehtoisen miehen avulla käyttäen esimerkissä 4 valmistettua valmistetta [joka käsittää fosfolipidi-(yhdistelmä-DNA-tekniinen ihmisen kasvuhormoni)-kompleksin].

10

Taulukko

Kokeeseen osallistuneiden kohteiden (kaikki miehiä) piirteet

	<u>Nimi</u>	<u>Ikä</u>	<u>Pituus (cm)</u>	<u>Paino (kg)</u>	<u>Suun kautta annetun r-hGH:n annostus (mg)</u>
15	JBL	26	172	66	7
	PJG	22	179	68	7
	NMH	20	178	60	15
	CSB	24	175	65	15
20	KKN	22	172	57	30
	CSK	20	172	57	30
	CYG	25	174	60	näennäislääke
	KJH	27	175	65	näennäislääke
	YKS	20	175	60	näennäislääke

25

Näissä yhdeksässä vapaaehtoisessa suun kautta annettun r-hGH-valmisteen aiheuttamat muutokset veren sokeripitoisuudessa ja hGH-pitoisuudet mitattiin käytetyn annoskoon ollessa 0, 7, 15 ja 30 ml (0, 7, 15 ja 30 mg suun kautta annettavaa rhGH-valmistetta). Määritykset tehtiin kaupallisia reagenssipakkauksia käyttäen EDTA-käsitellyllä plasmalla. Kustakin koehenkilöstä saadut tulokset on esitetty yksitellen kuvioissa 1-9 ja suun kautta annetun r-hGH:n aikaansaama keskimääräinen annosvaste RIA-määritettyyn plasman hGH-pitoisuuteen on esitetty kuviossa 10. Kokeissa voitiin todeta "diabetogeenisyys"-vaikutus sekä plasman hGH-pitoisuuden suureneminen RIA-analyysillä todettavissa olevalla tavalla, ja kaikissa aktiivisella lääkkeellä

35

käsitellyissä vapaaehtoisissa nämä muutokset olivat "kaksivaiheisia", samalla tavalla kuin mitä on todettu annettaessa muita oheisen keksinnön mukaisia valmisteita kuten suun kautta annettavaa pST:tä sioille ja suun kautta annettavaa insuliinia soke-
5 ritautipotilaille.

Jälleen, suun kautta annettu r-hGH (fosfolipo-r-hGH:na) ilmeisesti imeytyy ja indusoi hGH:n biologisia vaikutuksia ihmisissä. Sitä on biologisesti saatavana verenkierrossa tavallisesti
10 0,5-4 tuntia suun kautta antamisen jälkeen; hGH:n oletetaan kanavoituvan maksaan, josta se vapautuu, jolloin sitä on näin ollen saatavana verenkierrossa jälleen suunnilleen 8-12 tunnin tai pitemmän ajan kuluttua suun kautta antamisesta. hGH:n biologisen saatavuuden (sekä lisäksi biologisen aktiivisuuden)
15 kaksivaiheinen vaikutus riippuu ilmeisesti annoksen suuruudesta; suhteellisesti pienempiä annoksia käytettäessä suun kautta annettua hGH oli biologisesti saatavana 0,5-2 tuntia suun kautta tapahtuneen antamisen jälkeen, ja sitä oli jälleen biologisesti saatavilla noin 8 tunnin kuluttua; kun taas suurempia
20 annoksia (30 mg r-hGH) käytettäessä ensimmäinen biologisen saatavuuden huippu todettiin noin 4 tunnin kuluttua ja toinen piikki todettiin noin 11 tunnin kuluttua suun kautta antamisesta.

25 Suositeltu mahdollinen annos oli 15 mg/ihminen. Ohessa suoritetussa tutkimuksessa 7 mg oli myös merkittävästi tehoava annos. 1-10 mg/ihminen, erityisesti 3-5 mg/ihminen, saattaa olla sopiva hoitava annos.

30 **Biologinen esimerkki E**

: Esimerkin 5 mukaista valmistetta (lohen kalsitoniinin suun kautta annettava muoto; ODDS-sct) tutkittiin nuorista vapaaehtoisista miehistä koostuvassa ryhmässä. Näiden vapaaehtoisten
35 piirteet olivat seuraavat:

Hlö- koodi	Ikä (vuosia)	Paino (kg)	Pituus (cm)	Verenpaine (mmHg)**	Pulssi lyöntiä/min
A(10)*	23	78	187	120/80	72
B(5)*	23	73	183	140/100	56
5 C(100)+	20	59	172	110/70	56
D(10)*	25	61	173	100/60	60
E(100)+	25	66	169	120/80	64
F(5)*	23	63	174	100/60	60

10 * ODDS-sCT-kapseleiden lukumäärä, kunkin kapselin sisältäessä 60 IU.

** Systolinen/diastolinen.

+ Ihon alaisest injektoitu lohen kalsitoniini, IU.

15 Lyhyesti, kaikki koehenkilöt olivat syömättä ja juomatta yön yli, minkä jälkeen heille annettiin joko ODDS-sCT-kapseleita suun kautta tai CALSYNARtm-valmistetta (injektoitava lohen kalsitoniinia sisältävä valmiste) ihon alaisesti tutkimuspäivän aamuna klo 6:00. Laskimosta otettiin verinäytteitä käsivarren
20 alaosassa olevaan laskimoon jätetyn katetrin kautta ajanhetkillä 0, 60, 90, 10, 150, 180, 210, 240, 300 ja 360 minuuttia testattavan lääkkeen antamisen jälkeen. Seerumin fosfaattipitoisuudet mitattiin välittömästi verinäytteen ottamisen jälkeen, ja lohen kalsitoniinin pitoisuus plasmassa mitattiin radioimmuunimäärityksellä EDTA-käsitellyistä plasmanäytteistä.
25

Seerumin fosfaattipitoisuuden todettiin pienentyneen selvästi kaikissa vapaaehtoisissa, jotka olivat saaneet joko 300 IU tai
30 600 IU ODDS-cCT:tä sisältäviä kapseleita, ja nämä seerumin fosfaattipitoisuuden muutokset sen jälkeen, kun kohteille oli annettu suun kautta esimerkin 5 mukaista, lohen kalsitoniinia sisältävää valmistetta, olivat samankaltaisia kuin muutokset sellaisissa kohteissa, joille oli annettu lohen kalsitoniinia
35 ihonalaisena injektiona. 300 ja 600 kansainvälisellä yksiköllä suun kautta annettua ODDS-sCT:tä näyttää näin ollen olevan laajasti ottaen samankaltainen vaikutus seerumin fosfaattipitoisuuteen kuin 100 IU:lla sCT:ta ihonalaisesti injektoituna. Näin

ollen oheisen keksinnön mukaiset valmisteet ovat erittäin tehokkaita.

Esimerkki 7

5

Fosfolipo-(lohen kalsitoniini)-kompleksi tehtiin sekoittamalla keskenään 1,2-dimyristoyyli-sn-glyseroli-3-fosfatidihappo-mono-
hydraattia sekä L- α -fosfatidyylikoliini-bimyristoyyliä (nat-
riumsuola) aprotiniinin läsnäollessa, 0,9 % isotonisessa suola-
10 liuoksessa, ja kemiallista "vuorovaikutusta" indusoitiin huone-
neen lämpötilassa 30 minuutin ajan. Nämä fosfolipidit, joiden
tiedetään osallistuvan ohutsuolen epiteelissä tapahtuvan fosfa-
tidyylikoliinisynteesin L- α -fosfatidyyliglyserolireittiin, si-
toutuvat ilmeisesti ei-kovalenttisesti in vitro lohen kalsito-
15 niinissa oleviin lipofiilisiin kohtiin.

Edellä mainittu fosfolipo-(lohen kalsitoniini)-kompleksi sus-
pendoidaan ja sekoitetaan liuokseen, joka sisältää sellaista
pinta-aktiivista ainetta, jonka HLB-arvo on 14 tai enemmän
20 (polyoksi-40-stearaatti), viskositeettia suurentavaa ainetta
(paksunninta) sekä suspendoituneen fosfolipokalsitoniinin "sta-
bilisaattoria" (esim. alle 5 %, edullisesti alle 2 % hydroksi-
propyyliiselluloosaa). pH asetetaan noin arvoon 2,0 käyttäen
sitruunahapon ja askorbiinihapon väkeviä liuoksia (vaikka käyt-
25 tökelpoisia ovat myöskin muu happamat, pH-arvoa muuttavat ai-
neet).

Edellä saatu liuos suspendoidaan kolmeen-neljään tilavuuteen
öljyhappoa (tai mitä tahansa muuta C₁₆- tai suurempaa rasvahap-
30 poa), joka sisältää sellaista pinta-aktiivista ainetta, jonka
HLB-arvo on 4 tai vähemmän. Tämä C₁₆- tai suurempi rasvahappo
voi toimia "tilavuuden laajentajana", ja lisäksi se voi mahdol-
lisesti parantaa tämän fosfolipo-(lohen kalsitoniini)-komplek-
sin imeytymistä kalvon läpi, ja/tai toimia fosfolipo-(lohen
35 kalsitoniini)-kompleksin "enteerisenä pinnoitteena". Tämä öljy-
hapon ja pinta-aktiivisen aineen yhdistelmä ei ole kuitenkaan
ehdottoman olennainen.

Seuraavassa esitetään tässä esimerkissä valmistetun fosfolipo-
(lohen kalsitoniini)-valmisteen todellinen kemiallinen koos-
tumus:

5	<u>Kemiallinen aineosa</u>	<u>Paino (mg tai g)</u>		<u>Huomau-</u>
		<u>Edullinen</u>	<u>Optimaalinen</u>	<u>tuksia</u>
	OSA A:			
10	Lohen kalsitoniini	200-1500 mg	480 mg	Rorer*
	1,2-dimyristoyyli-sn- glyseroli-3-fosfotidi- happo-monohydraatti	50-1000 mg	500 mg	
15	L- α -fosfokoliini- bimyristoyyli (natriumsuola)	50-1000 mg	500 mg	
20	Aprotiniini	250-50000 mg	10 g	(12 TIU·mg)
	Isotoninen suolaliuos	50-400 mg	150 g	
	OSA B:			
25	Hydroksipropyyliselluloosa	500-7200 mg	1,5 g	
	Polyoksi-40-stearaatti	2-12 g	4 g	
30	Sitruunahappo	1-5 g	2,4 g	
	Askorbiinihappo	1-7 g	3,0 g	
	OSA C:			
35	Öljyhappo	125-1200 g	540 g	
	Tween-80	5-42 g	10,5 g	
40	Glyserolimono-oleaatti	7,3-124,2 g	41,4 g	

(* Rorer-lohen kalsitoniini; Erä no. NPP 209; 8908047).

45 Menetelmä valmisteen tekemiseksi oli seuraava:

OSA A sekoitettiin huolellisesti ja jätettiin seisomaan huoneen
lämpötilaan 30 minuutiksi tai pitemmäksi ajaksi. OSA B sekoi-
tettiin ja valmistettiin ja sitten OSA A suspendoitiin OSAan B

huoneen lämpötilassa varovasti sekoittaen. pH asetettiin sitruunahapolla ja askorbiinihapolla noin arvoon 2,0.

5 OSA C, öljyliuos, valmistettiin sekoittamalla. Varovasti sekoittaen OSasta A ja OSasta B-muodostuva valmiste kaadettiin OSAan C.

10 Tämä sekoitettu liuos voidaan pinnoittaa sumuttamalla joko karboksimeetyyliselluloosa-Ca:sta ja algiiniinihaposta tai algiiniinihaposta ja gelatiinista koostuvan jauheen pinnalle, jonka jauheen painomäärä on suurin piirtein sama kuin liuoksen painomäärä. Tämä pinnoitettu, kuiva jauhe voidaan pakata kovagelatiinikapseleihin ja sitä voidaan antaa suun kautta ihmiskoh-
15 antaa suun kautta joko pehmeässä gelatiinikapselissa tai sellaisenaan.

Biologinen esimerkki F

20 Tähän tutkimukseen osallistui kuusi nuorta tervettä vapaaehtoista miestä. Koehenkilöt olivat yön yli syömättä ja juomatta, minkä jälkeen neljälle koehenkilölle annettiin suun kautta kello 05:30 esimerkin 7 mukaista lohen kalsitoniinia sisältävää valmistetta. Kahdelle koehenkilölle annettiin 300 IU lohen kalsitoniinia sisältävä, esimerkin 7 mukainen kapseli ja kah-
25 delle muulle koehenkilölle annettiin suun kautta 600 IU esimerkin 7 mukaista lohen kalsitoniinia. Kahdelle koehenkilölle annettiin tuotetta CALCYNAR, joka on injektoitavassa muodossa olevan lohen kalsitoniinin tavaramerkki, 100 IU ihon alaisesti.
30 Seerumin fosfaattipitoisuus ja plasman kalsitoniinipitoisuus (radioimmuunimäärityksellä) määritettiin 30 minuuttia ennen lääkintää, lääkinnän hetkellä ja 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 ja 300 minuuttia lääkinnän jälkeen.

Taulukko

Seerumin fosfaattipitoisuuden (% vertailusta) ja RIA-määritetyn plasman sCT-pitoisuuden (P g/ml) muuttuminen miehissä sen jälkeen, kun heille oli annettu suun kautta lohen kalsitoniinia (esimerkin 7 mukainen valmiste) sekä ihonalaisena injektiona valmistetta CALCYNAR

Aika (min)	RIA-sCT (P g/ml)						Seerumin fosfaatti (muutos-%)					
	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
0	N	N	105	N	N	N	4,54	4,01	4,31	4,50	4,88	5,11**
10	N	N	150	N	220	34	7,1	5,7	12,5	14,2	9,4	2,5
60	N	N	100	N	100	94	10,6	17,2	15,8	20,7	1,8	7,2
90	48	N	44	N	48	62	17,8	21,2	17,2	25,8	6,6	11,0
120	116	N	19	N	40	70	22,0	36,2	17,0	28,4	9,2	8,2
150	138	N	42	N	16	63	17,4	16,0	13,0	2,7	+7,0	3,3
15	50	N	N	N	48	120	30,8	31,9	29,2	36,4	18,4	15,1
210	N	N	N	N	N	70	30,4	30,9	35,0	32,4	16,2	19,2
240	N	N	N	N	N	60	24,9	29,2	31,3	20,7	17,0	13,5
300	N	N	N	N	20	56	18,4	28,2	27,2	27,8	19,7	17,03
360	N	N	N	N	24	48	11,0	12,0	23,9	18,2	26,6	8,6

++ 5,11 (ajanhetkellä 0 minuuttia) = seerumin fosfaattitaso vertailussa, pohjaviivan arvo yksikössä mg/ml seerumia.

Huom: Kaikki seerumin fosfaattitason % muutokset ovat (-) eli "miinus"-merkkisiä, ellei toisin olla mainittu. (+ merkki tarkoittaa sitä, että seerumin fosfaattitaso oli suurentunut.)

Kokeen lääkityksessä käytettyjen annostusten koodit:

10 Koehenkilö A = 600 IU SCT suun kautta esimerkin 1 mukaisena valmisteena, per os.
 Koehenkilö B = 300 IU, per os;
 Koehenkilö C = 100 IU CALCYNAR; ihonalaisena injektiona;
 Koehenkilö D = 600 IU, per os;
 Koehenkilö E = 100 IU CALCYNAR; ihonalaisena injektiona;
 15 Koehenkilö F = 300 IU, per os.

Lohen kalsitoniinia sisältävä, esimerkin 7 mukainen valmiste terveille vapaaehtoisille miehille suun kautta annettuna oli biologisesti aktiivista siinä suhteessa, että se alensi seerumin fosfaattipitoisuutta vähintään yhtäpaljon tai enemmän kuin miehiin ihonalaisesti injektoitu lohen kalsitoniini. Plasman SCT-pitoisuuksia ei ollut kuitenkaan aina ilmaistavissa RIA-menettelmällä sen jälkeen, kun kohteille oli annettu suun kautta nielemällä joko 600 tai 300 IU esimerkin 7 mukaista lohen kalsitoniinia. SCT:n sitominen fosfolipideihin saattaa aiheuttaa SCT:hen tiettyjä antigeenisia muutoksia; tästä syystä SCT:tä ei ehkä kyetä ilmaisemaan nykyisillä SCT-spesifisillä vasta-aineilla, joita käytetään radioimmuunimäärityksessä.

30 **Esimerkki 8**

Suun kautta annettava insuliinivalmiste (naudan insuliini) tehtiin sekoittamalla insuliinia L- α -fosfokoliiniin (lesitiinin esiaste) olosuhteissa, joissa oli läsnä sopivaa pinta-aktiivista ainetta sekä aprotiniinia isobutyrylialkoholissa (0,9 %). Täten muodostunut, ei-kovalenttisesti sitoutunut kompleksi suspendoitiin veteen, joka sisälsi MCT-öljyä (eli triglyseridejä,

joiden ketjun pituus oli keskimääräinen), valmisteen antamiseksi myöhemmin sokeritautipotilaista muodostetulle ryhmälle.

Seuraavassa on esitetty valmisteen kemiallinen koostumus:

5	<u>Kemiallinen aineosa</u>	Paino (mg tai g)	
		<u>Edullinen</u>	<u>Optimaalinen</u>
	OSA A		
	Naudan insuliini	0,5-5 g	1 g
10	L- α -fosfokoliini	50-2000 mg	500 mg
	Aprotiniini tuotteena		
	TRASYLOL tm	50-250 ml	150 ml
	(5 ml = 100 000 KIU)		
	Sitruunahappo	1-5 g	2,4 g
15	Askorbiinihappo	1-7 g	2,0 g
	OSA B		
	Polyoksi-40-stearaatti	2-12 g	4,0 g
	Hydroksipropyyliselluloosa	0,5-8 g	1,5 g

20

Tämä valmiste valmistettiin seuraavasti:

Osa A sekoitettiin huoneen lämpötilassa huolellisesti, varovaisesti sekoittaen. Osa B valmistettiin liuottamalla HPC ja polyoksi-40-stearaatti täydellisesti 100 ml:aan ionittomaksi tehtyä vettä. Sitten osa A lisättiin osaan B varovaisesti hämmentäen ja huolellisesti sekoittaen huoneen lämpötilassa.

Tätä insuliinivalmistetta voidaan antaa sellaisenaan sokeritautipotilaille tai se voidaan suspendoida 10-30 ml:aan MCT-öljyä (triglyseridi, jonka ketjun pituus on keskimääräinen), joka öljy voi toimia enterisenä pinnoitteena sekä tilavuuden lisäjäjänä edistämään valmisteen siirtymistä pois mahasta mahanportin (pylorus) läpi edelleen pohjukkais-tyhjä-sykkyräsuoleen.

35

Biologinen esimerkki G

Tähän tutkimukseen osallistui kahdeksan sokeritautipotilasta. Tutkimuspäivän aamuna koehenkilöt olivat syömättä ja juomatta ja kukin heistä otti suun kautta esimerkin 8 mukaista, suun kautta otettavaksi tarkoitettua insuliinivalmistetta; verensokeria mitattiin kaksi tuntia.

10	Nimi	Suku- puoli	Ikä	Paino (kg)	Tyyppi	Annos (IU)	Verensokeri (mMol/dl)		
							0	60	120
							M i n u u t t i a		
	COJ	N	77	60	II	30	10,4	-	9,4
	KDS	M	63	63	II	24	9,3	8,5	8,1
	SDG	M	51	52	II	24	10,4	8,4	7,0
15	HKH	M	44	70	I	24	9,5	7,9	7,8
	CYH	M	39	50	I	24	9,1	7,8	-
	NCS	N	53	65	II	30	14,5	10,8	10,1
	SKW	M	66	61	II	30	10,5	9,7	8,7
	YYC	N	49	57	II	48	20,2	17,3	13,7

20

Esimerkin 8 mukaisella insuliinivalmisteella suun kautta annettuna kyettiin hallitsemaan kummassakin sokeritautityypissä veren liikasokerisuutta.

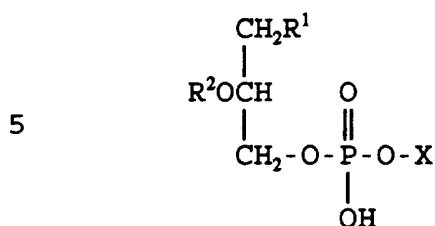
25

30

35

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi, joka koostumus käsittää lesitiiniä tai lesitiinin esiastetta
5 sekä proteiinipohjaista tai ei-proteiinipohjaista biologisesti aktiivista ainetta, **tunnettu** siitä, että tämä menetelmä käsittää vaiheet, joissa:
- (i) valmistetaan lipofiilinen faasi sekoittamalla:
10 yksi tai useampi öljy (kuten kolesteroli tai mikä tahansa muu materiaali, joka muodostaa maitiaishiukkasen matriisin),
lesitiini tai mikä tahansa muu sopiva fosfolipidi ja lipofiilinen pinta-aktiivinen aine;
 - (ii) valmistetaan hydrofiilinen faasi liuottamalla biologisesti
15 aktiivinen aine ja lesitiini tai lesitiinin esiaste hydrofiiliseen liuottimeen; ja
 - (iii) muodostetaan kaksi faasia käsittävä järjestelmä sekoittamalla lipofiilinen ja hydrofiilinen faasi keskenään.
- 20 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että biologisesti aktiivinen aine on proteiinipohjaista.
3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että biologisesti aktiivinen aine on insuliini, erytropoietini,
25 sian somatotropiini, ihmisen kasvuhormoni tai lohen kalsitoniini.
4. Patenttivaatimuksen 1, 2 tai 3 mukainen menetelmä, **tunnettu**
30 **tu** siitä, että biologisesti aktiivinen materiaali on läsnä yhdessä lesitiinin esiasteen kanssa.
5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että lesitiinin esiaste on fosfolipidi.
- 35 6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fosfolipidillä on yleinen kaava:



10 jossa kumpikin R^1 ja R^2 tarkoittavat toisistaan riippumatta esimerkiksi 14-26 hiiliatomia käsittävää asyyliryhmää, joka on valinnaisesti mono- tai polysubstituoitunut, ja X tarkoittaa vetyatomia tai fosfolipidi-pääryhmää.

15 7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fosfolipidi-pääryhmä on etanoliamiinin, koliinin, seriinin tai glyserolin jäännös.

20 8. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fosfolipidi käsittää:

dimyristoyyli-fosfatidyyli-glyserolia (DMPG),
 dipalmitoyyli-fosfatidyyli-glyserolia (DPPG),
 distearoyyli-fosfatidyyli-glyserolia (DSPG),
 dimyristoyyli-fosfatidyylikoliinia (DMPC),
 25 dipalmitoyyli-fosfatidyylikoliinia (DPPC),
 distearoyyli-fosfatidyylikoliinia (DSPC),
 dimyristoyyli-fosfatidihappoa (DMPA),
 dipalmitoyyli-fosfatidihappoa (DPPA) tai
 distearoyyli-fosfatidihappoa (DSPA).

30 9. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fosfolipidi käsittää:

dimyristoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiinia (DMPE),
 dipalmitoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiinia (DPPE) tai
 35 distearoyyli-fosfatidyyli-etanoliamiinia (DSPE).

10. Jonkin patenttivaatimuksen 1-9 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää hydrofiilista pinta-aktiivista ainetta.

11. Jonkin patenttivaatimuksen 1-10 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää proteaasi-inhibiittoria.

12. Jonkin patenttivaatimuksen 1-11 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää biologisesti aktiivisen aineen stabilisaattoria.

13. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää emulgoinnin apuainetta.

10

14. Jonkin patenttivaatimuksen 1-13 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää stabilisaattoria ja/tai pehmenintä.

15. Jonkin patenttivaatimuksen 1-14 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että koostumus käsittää säilöntäainetta.

16. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että säilöntäaine käsittää antioksidanttia.

20

17. Patenttivaatimuksen 15 tai 16 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että säilöntäaine käsittää mikrobeja torjuvaa ainetta.

18. Jonkin patenttivaatimuksen 1-17 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmiste muutetaan kiinteään muotoon pakastekuivaamalla.

19. Jonkin patenttivaatimuksen 1-17 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmiste muutetaan kiinteään muotoon sumuttamalla se kantajarakeiden tai -hiukkasten päälle.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en farmaceutisk formulering, vilken formulering innefattar lecitin eller en prekursor för lecitin samt ett proteinbaserat eller icke-proteinbaserat biologiskt aktivt material, **kännetecknat** av att förfarandet innefattar stegen i vilka:

- (i) framställs en lipofil fas genom blandning av:
 en eller flera oljor (såsom kolesterol eller vilket som
 helst annat material som bildar en kylomikronmatris),
 lecitin eller vilken som helst annan användbar fosfolipid
 5 och ett lipofilt ytaktivt ämne;
- (ii) framställs en hydrofil fas genom lösning av ett biologiskt
 aktivt ämne och lecitin eller en prekursor för lecitin i
 ett hydrofiliskt lösningsmedel; och
- (iii) bildas ett tvåfssystem genom blandning av de lipofila
 10 och hydrofila faserna.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att det
 biologiskt aktiva materialet är proteinbaserat.

15 3. Förfarande enligt patentkrav 2, **kännetecknat** av att det
 biologiskt aktiva materialet är insulin, erytropoietin, grisso-
 matotropin, humant tillväxthormon eller laxkalcitonin.

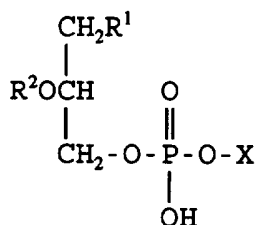
4. Förfarande enligt patentkrav 1, 2 eller 3, **kännetecknat** av
 20 att det biologiskt aktiva materialet är närvarande tillsammans
 med en lecitinprekursor.

5. Förfarande enligt patentkrav 4, **kännetecknat** av att leci-
 tinprekursorerna är en fosfolipid.

25

6. Förfarande enligt patentkrav 5, **kännetecknat** av att fos-
 folipiden har den allmänna formeln:

30



35

vari var och en av R¹ och R² oberoende betecknar en acylgrupp
 med t.ex. 14 till 26 kolatomer som eventuellt är mono- eller
 polyomättad och X betecknar en väteatom eller en fosfolipidhu-
 40 vudgrupp.

7. Förfarande enligt patentkrav 6, **kännetecknat** av att fosfolipidhuvudgruppen är en rest av etanolamin, kolin, serin eller glycerol.

5 8. Förfarande enligt patentkrav 5, **kännetecknat** av att fosfolipiden innefattar:

10 dimyristoyl-fosfatidyl-glycerol (DMPG),
dipalmitoyl-fosfatidyl-glycerol (DPPG),
distearoyl-fosfatidyl-glycerol (DSPG),
dimyristoyl-fosfatidyl-kolin (DMPC),
dipalmitoyl-fosfatidyl-kolin (DPPC),
distearoyl-fosfatidyl-kolin (DSPC),
15 dimyristoyl-fosfatidin-syra (DMPA),
dipalmitoyl-fosfatidin-syra (DPPA) eller
distearoyl-fosfatidin-syra (DSPA).

9. Förfarande enligt patentkrav 5, **kännetecknat** av att fosfolipiden innefattar:

20 dimyristoyl-fosfatidyl-etanolamin (DMPE),
dipalmitoyl-fosfatidyl-etanolamin (DPPE) eller
distearoyl-fosfatidyl-etanolamin (DSPE).

25 10. Förfarande enligt något av patentkraven 1-9, **kännetecknat**
av att formuleringen innefattar ett hydrofilt ytaktivt ämne.

11. Förfarande enligt något av patentkraven 1-10, **kännetecknat**
av att formuleringen innefattar en proteasinhämmare.

30

12. Förfarande enligt något av patentkraven 1-11, **kännetecknat**
av att formuleringen innefattar en stabilisator för ett biologiskt aktivt ämne.

35 13. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att formuleringen innefattar ett hjälpmedel för emulgering.

14. Förfarande enligt något av patentkraven 1-13, **kännetecknat** av att formuleringen innefattar en stabilisator och/eller ett förmjukningsämne.
- 5 15. Förfarande enligt något av patentkraven 1-14, **kännetecknat** av att formuleringen innefattar ett konserveringsmedel.
16. Förfarande enligt patentkrav 15, **kännetecknat** av att konserveringsmedlet innefattar en antioxidant.
- 10 17. Förfarande enligt patentkrav 15 eller 16, **kännetecknat** av att konserveringsmedlet innefattar ett antimikrobiellt medel.
18. Förfarande enligt något av patentkraven 1-17, **kännetecknat** av att formuleringen omvandlas till en fast form genom frys-
15 torkning.
19. Förfarande enligt något av patentkraven 1-17, **kännetecknat** av att formuleringen omvandlas till en fast form genom sprut-
20 ning på bärargranuler eller -partiklar.

FIG. 1

HGH ja veren glukoositaso,
kohde JBL:7 ml

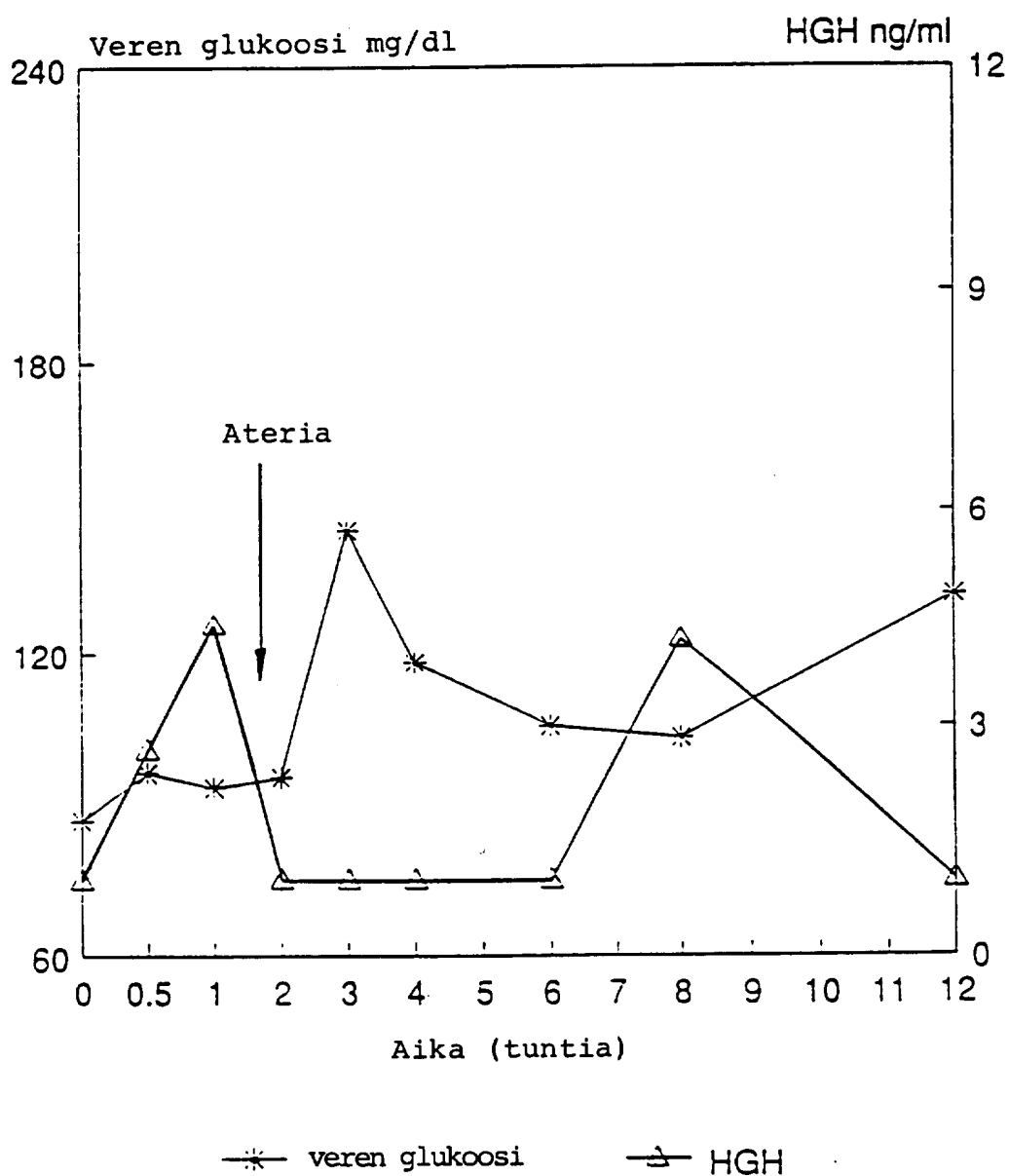
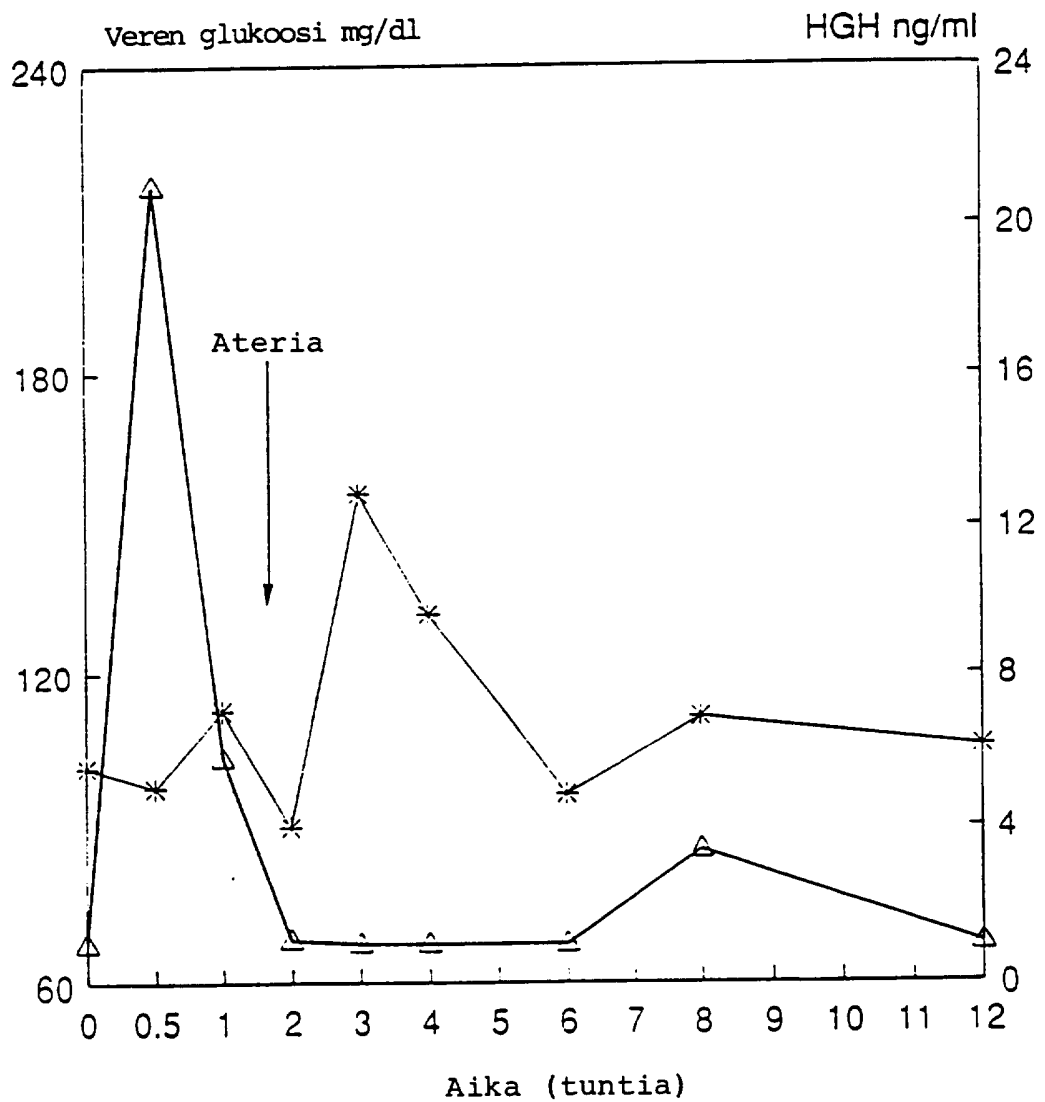


FIG. 2

HGH ja veren glukoositaso,
kohde PJG:7 ml



—*— veren glukoosi

—△— HGH

(Huom: HGH-asteikon muutos)

FIG. 3

HGH ja veren glukoositaso,
kohde NMH:15 ml

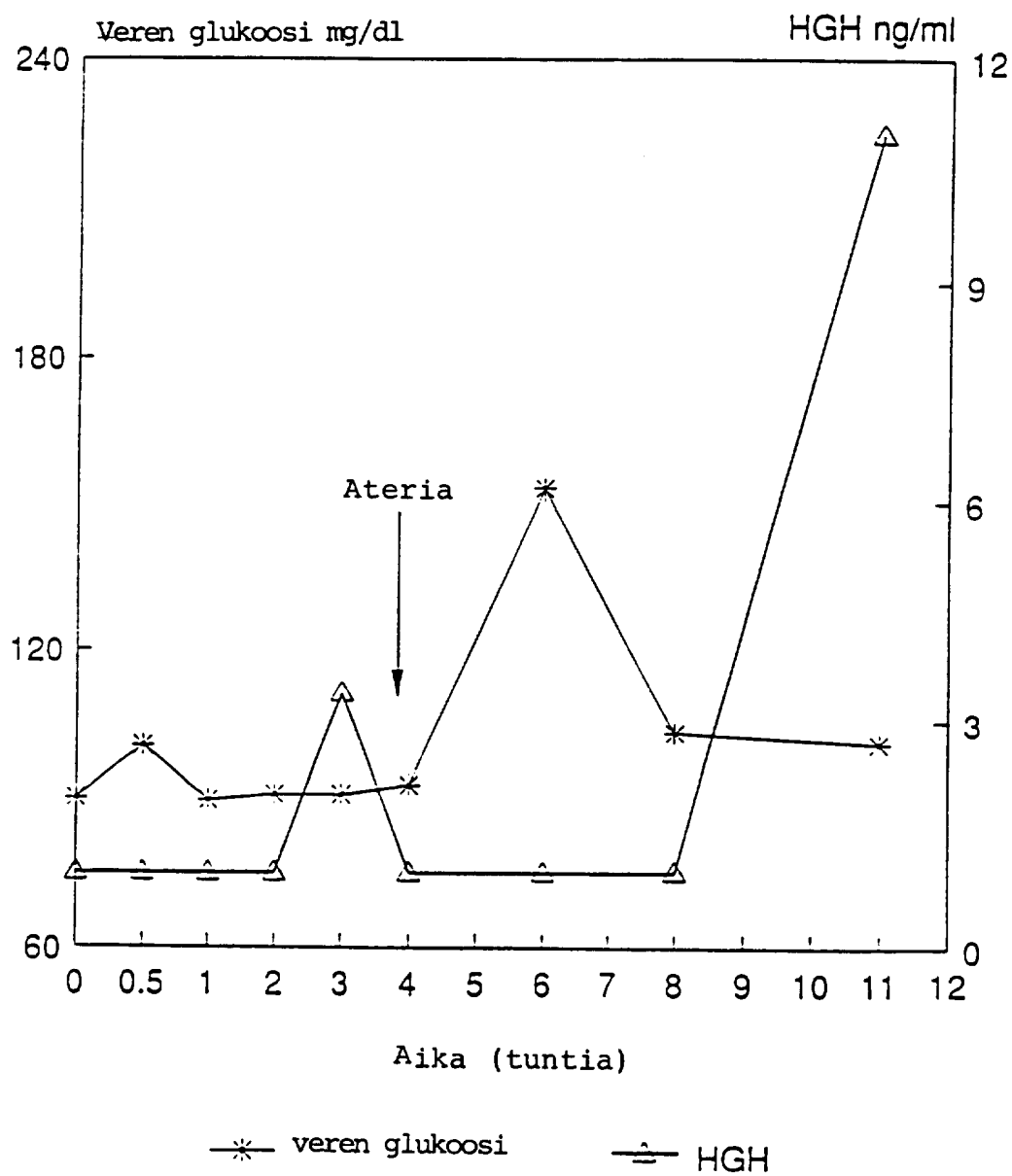
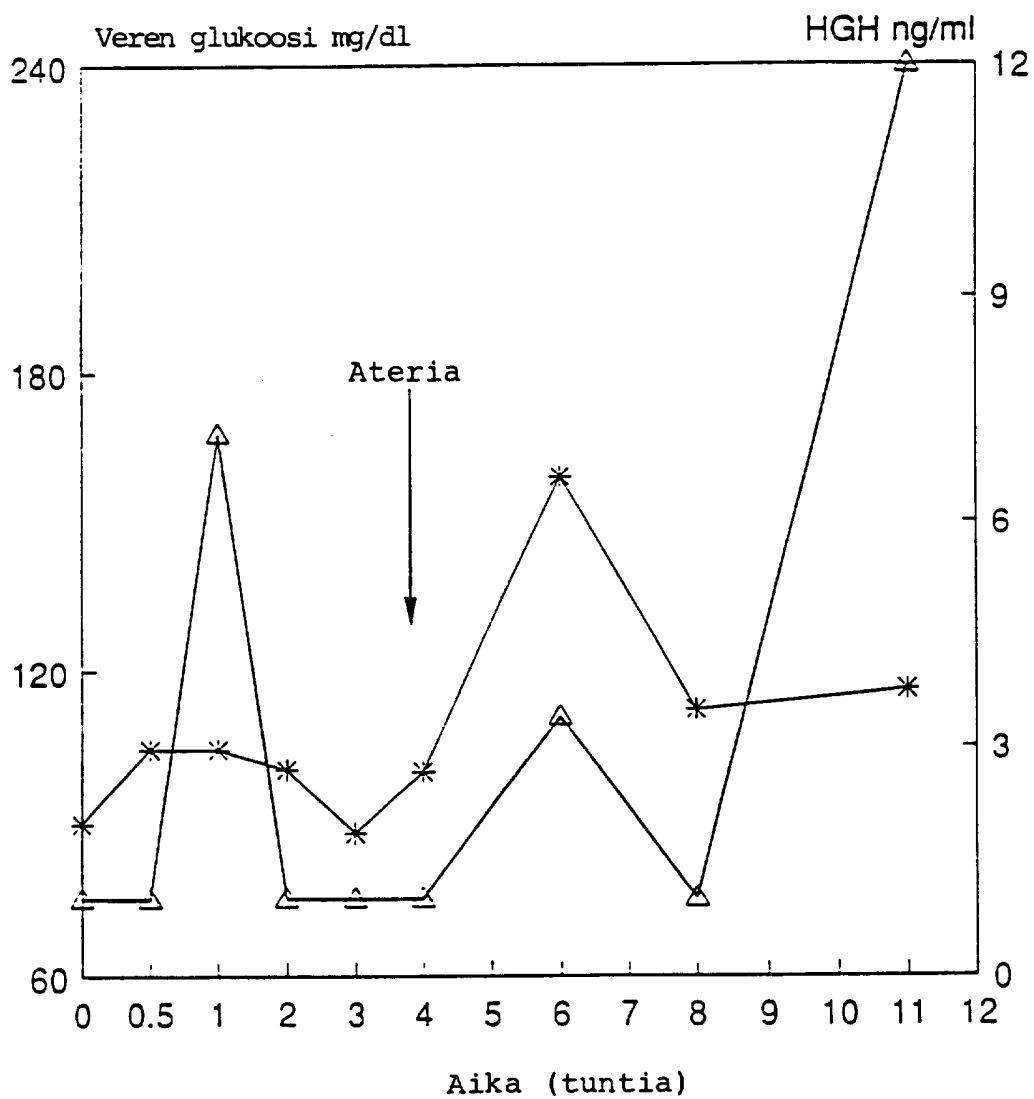


FIG. 4

HGH ja veren glukoositaso,
kohde CSB:15 ml

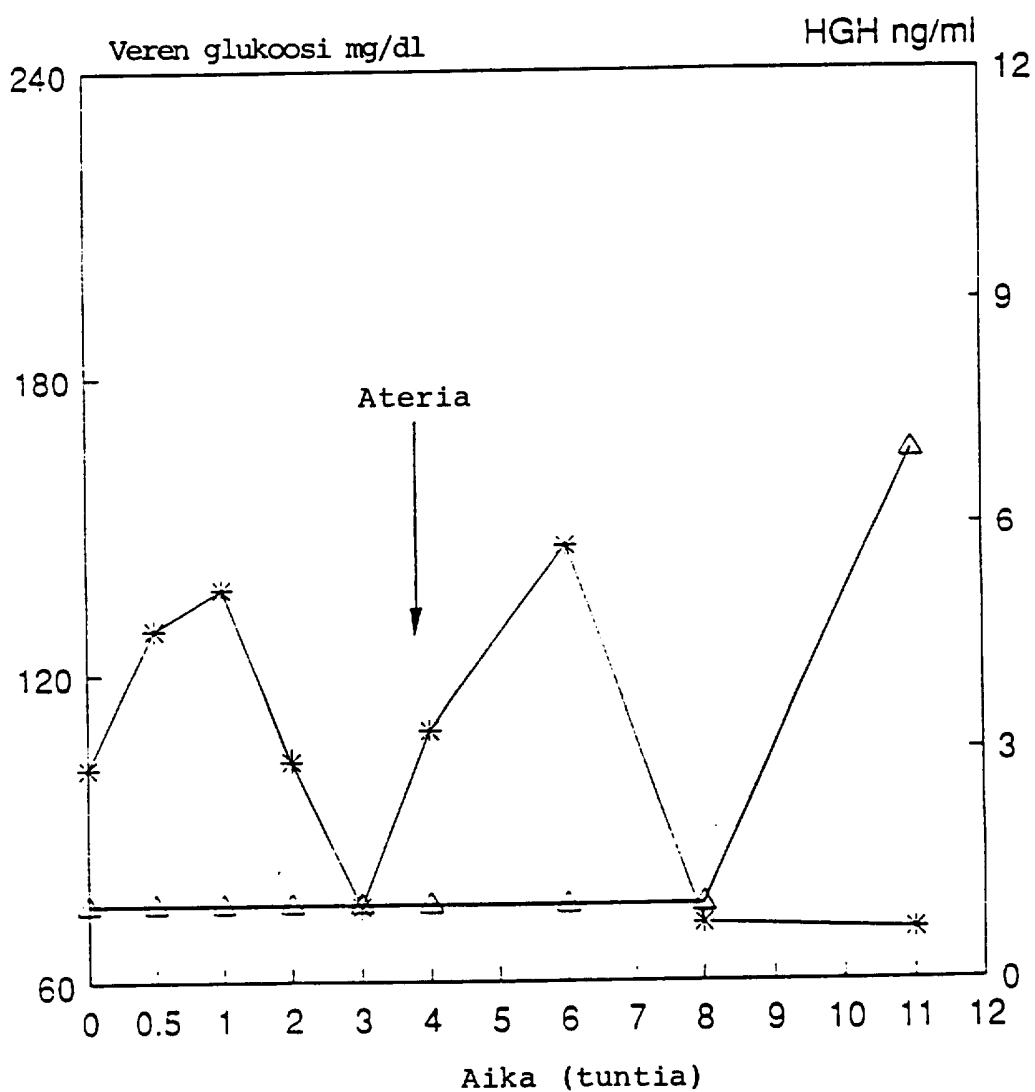


*— veren glukoosi

△— HGH

FIG. 5

HGH ja veren glukoositaso,
kohde KKN:30 ml

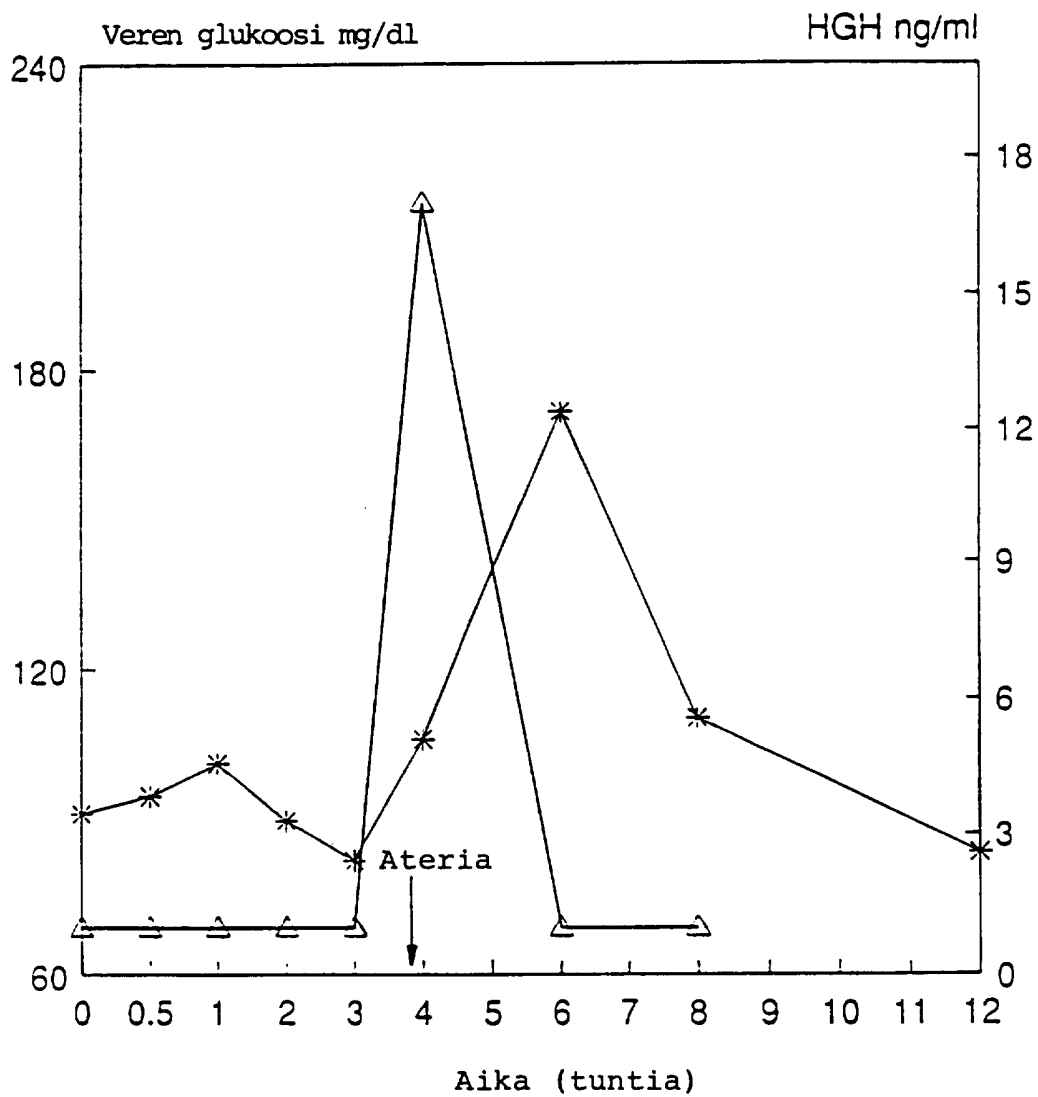


*— veren glukoosi

—△— HGH

FIG. 6

HGH ja veren glukoositaso,
kohde CSK:30 ml



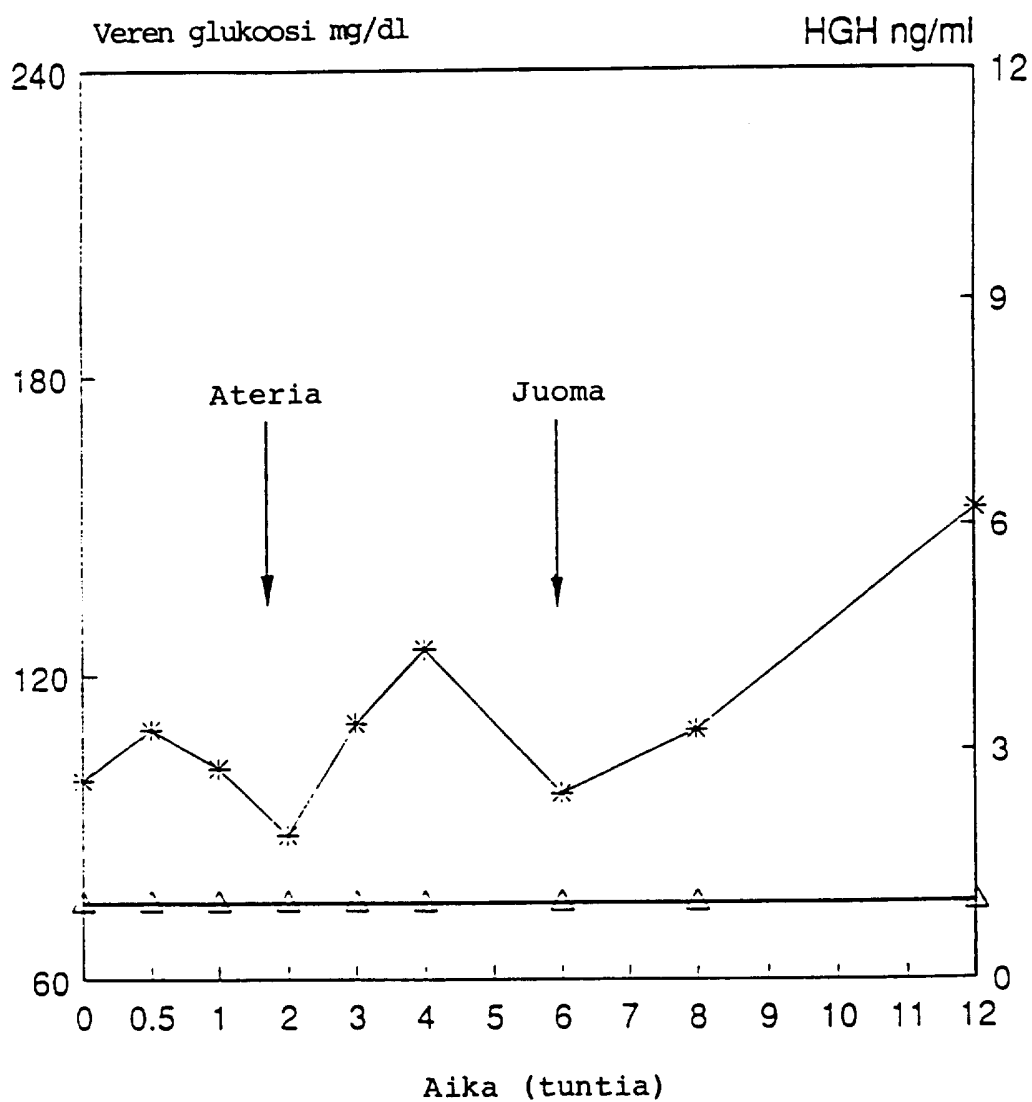
*— veren glukoosi

△— HGH

(Huom: HGH-asteikon muutos)

FIG. 7

HGH ja veren glukoositaso,
kohde CYG:vertailu



*— veren glukoosi

△— HGH

FIG. 8

HGH ja veren glukoositaso,
kohde KJH:vertailu

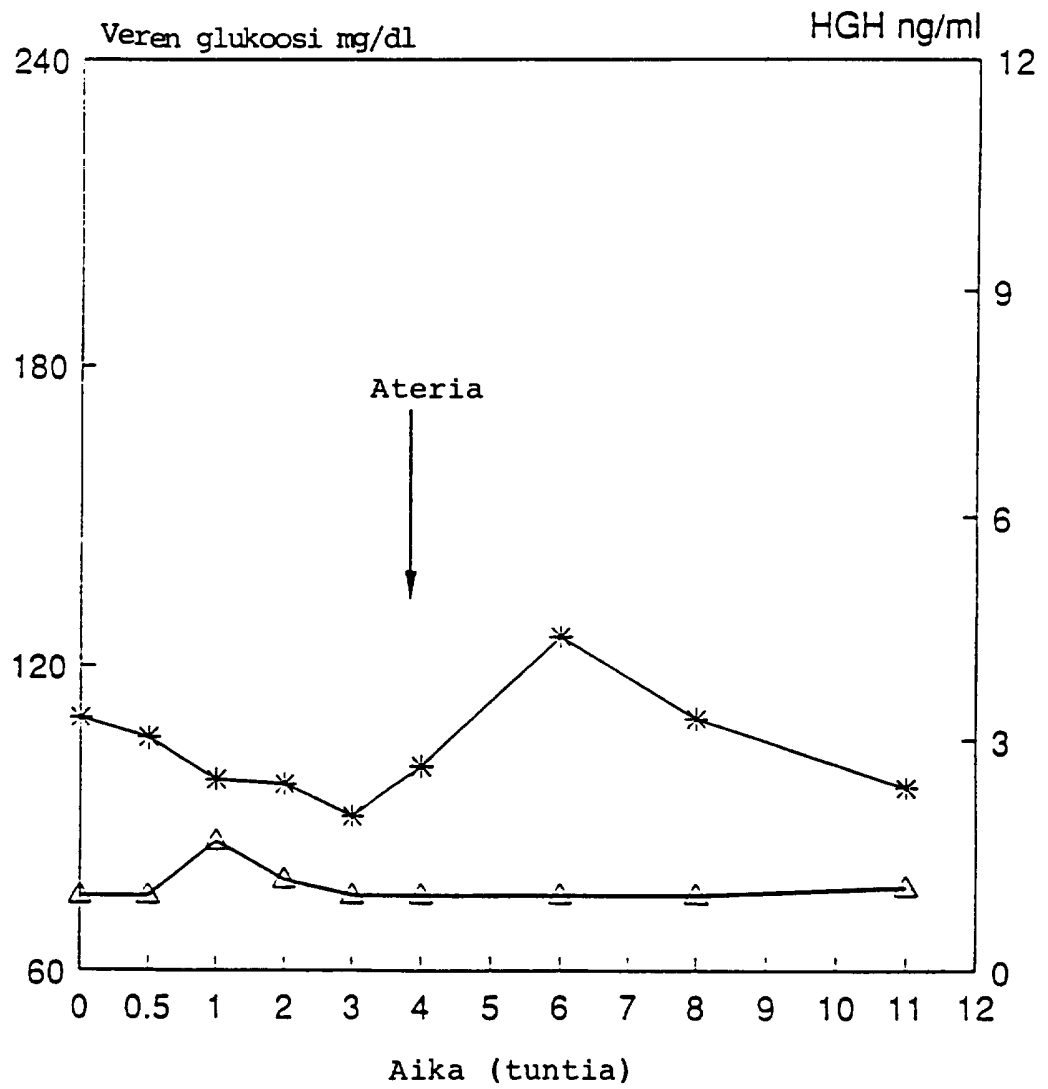
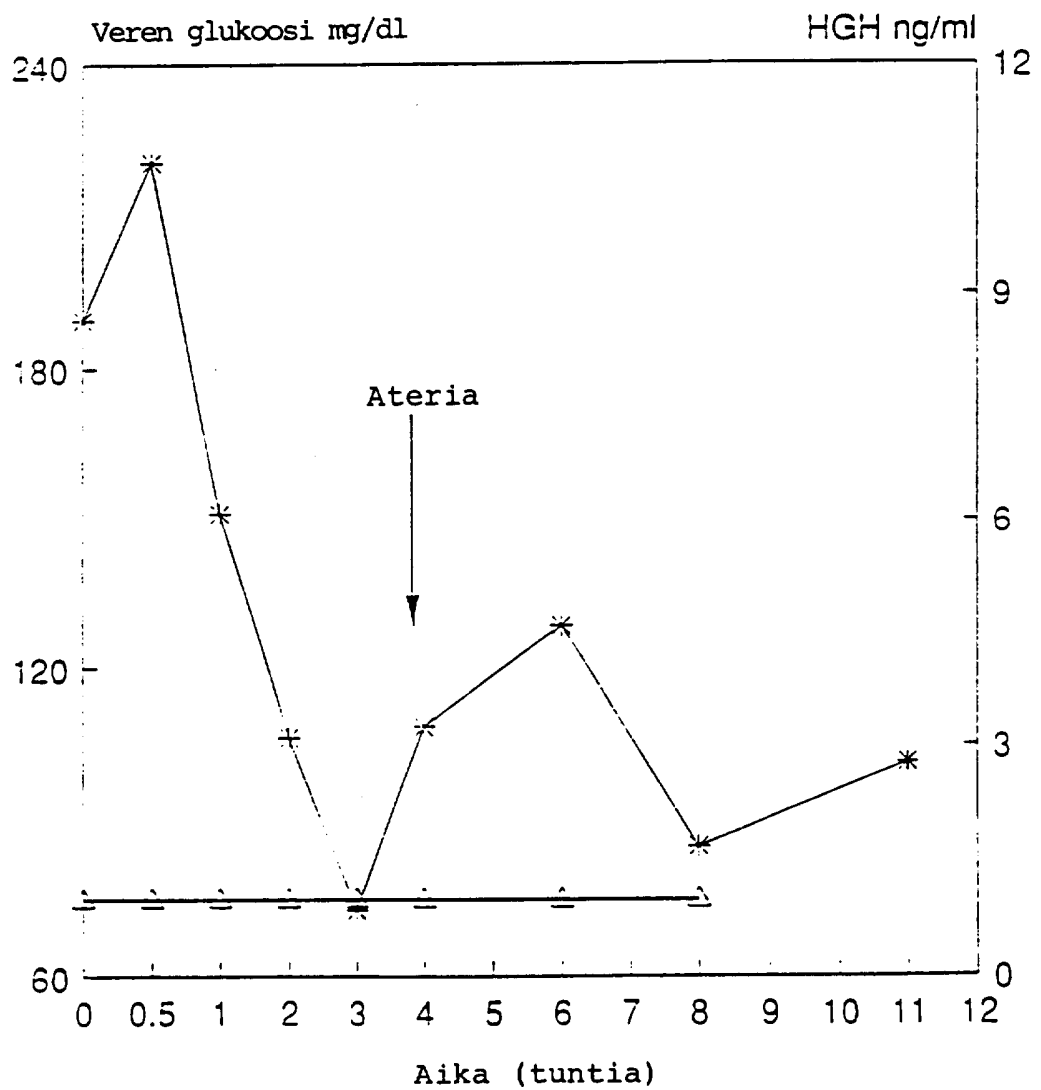


FIG. 9

HGH ja veren glukoositaso,
kohde YKS:vertailu

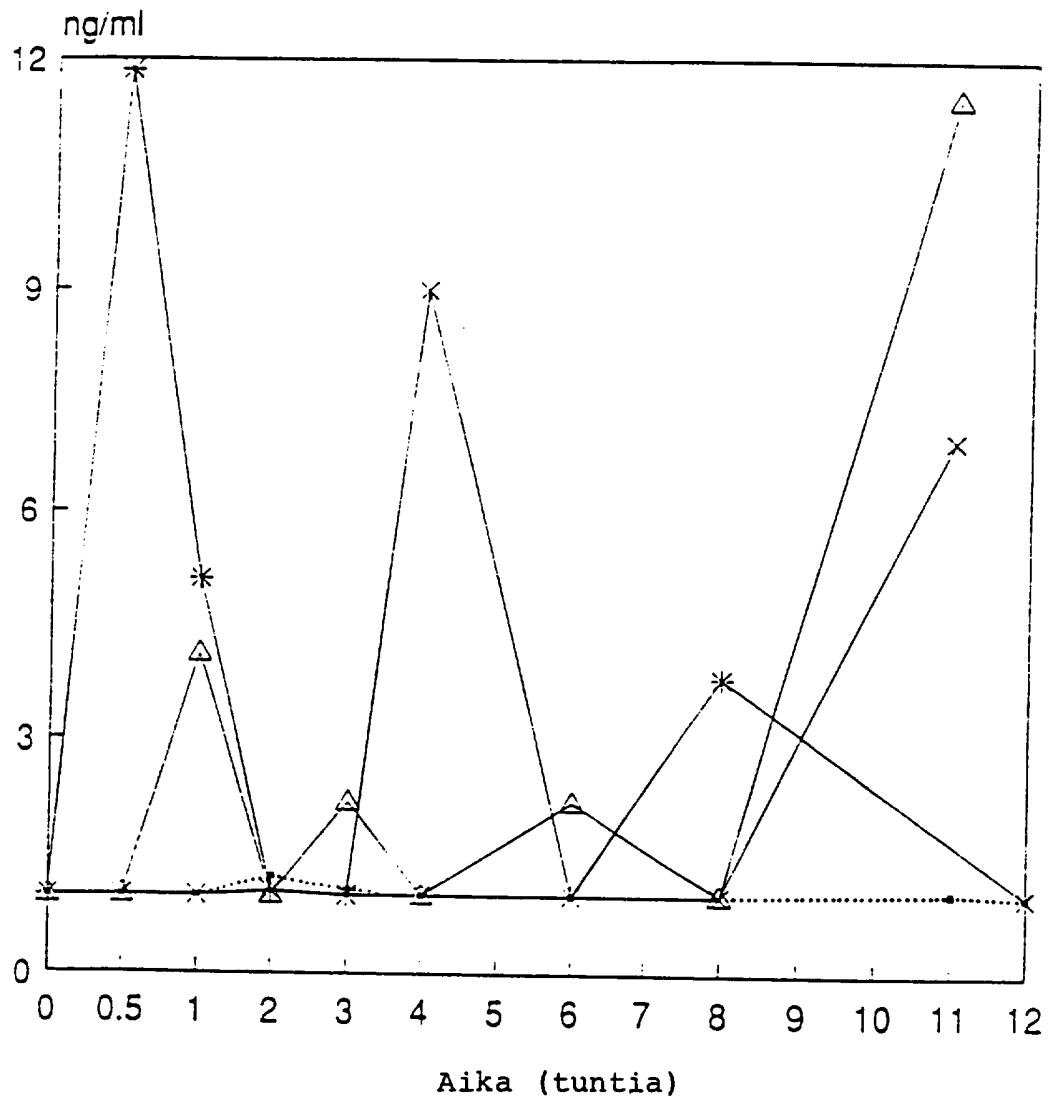


—*— veren glukoosi

—△— HGH

FIG. 10

HGH-taso suun kautta annettavan
HGH-valmisteen nauttimisen jälkeen



..... Vertailut *— 7 ml △— 15 ml *— 30 ml