



(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) **NO**

(11) **178564**

(13) **B**

(51) **Int Cl⁶ A 61 K 9/16, 9/18, 9/50**

Styret for det industrielle rettsvern

(21) Søknadsnr	890283	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	23.01.89	søknadsnummer	20.05.88, PCT/GB88/00396
(24) Løpedag	20.05.88	(85) Videreføringsdag	23.01.89
(41) Alm. tilgj.	23.01.89	(30) Prioritet	22.05.87, GB, 8712176
(44) Ulegningsdato	15.01.96		

(71) Patentsøker	Danbiosyst UK Ltd, Albert Einstein Centre, Highfields Science Park, Nottingham NG7 2TN, England, GB
(72) Oppfinner	Lisbeth Illum, Nottingham, England, GB
(74) Fullmektig	Curo AS, Lundamo

(54) **Benevnelse** **Framgangsmåte for framstilling av et system for administrering av aktive medikamenter gjennom slimhinner**

(56) **Anførte publikasjoner** **NO A 881533**

(57) **Sammendrag** **Legemiddel-avgivelsessystem som inkluderer et antall av mikrosfæriske partikler inneholdende et aktivt legemiddel og inkluderer et overflateaktivt materiale knyttet til hver partikkel og hvis overflateaktive materiale har egenskapen til å forbedre opptaket av det aktive legemidlet.**

Oppfinnelsen angår en framgangsmåte for framstilling av et system for administrering av aktive medikamenter gjennom slimhinner.

Bakgrunn

- 5 EP patentsøknader 023.359 og 122.023 beskriver en pulverformet farmasøytisk blanding for anvendelse på neseslimhinna og framgangsmåter for administrering av denne. Den farmasøytiske blandingen muliggjør effektiv absorpsjon av polypeptider og derivater av slike gjennom neseslimhinna. På liknende måte beskriver US Patentskrift 4.250.163 en framgangsmåte for administrering av et medikament til neseslimhinna hvor
- 10 den foretrukne sammensetning har evne til å klebe seg til slimhinna. EP patentsøknad 123.831 har beskrevet hvordan bruk av biokompatible vannløselige amfifile steroider forskjellig fra naturlige gallesyresalter er i stand til å øke gjennomtrengeligheten for legemidler gjennom legemsoverflater innbefattet nesen. Tysk patent 26 20 446 beskriver et vandig insulinpreparat for nasal anvendelse inneholdende et penetrerings-fremmende
- 15 middel i form av amfotære, anioniske eller ikke-ioniske tensider, saponin, gallesyresalter eller surfactin. EP patentsøknad 230.264 beskriver et vandig nasalt legemiddel-avgivelsessystem for vaksine inneholdende et legemiddel med høy molvekt, et geldannende middel (f.eks. hydroksyetyl-cellulose) og i noen tilfeller andre additiver (f.eks. tensider, glycerol, polyetylglykol).
- 20 Ingen av patentene eller søknadene ovenfor beskriver bruk av mikrosfærer for administrering nasalt eller kombinasjonen av mikrosfærer og en promotor eller andre hjelpestoffer som forventes å frambringe forbedret biotilgjengelighet.

Et mikrosfærisk preparat for administrering nasalt er beskrevet i PCT/GB86/00721, men dette er imidlertid relatert til materialer med ionebytte-egenskaper og et spesifikt

25 legemiddel, natrium-kromoglykat for lokal effekt framfor tilførsel til det generelle sirkulasjonssystem.

På nåværende tidspunkt foreslås nesen som en alternativ vei for avgivelse av legemidler som vil virke i den systemiske sirkulasjon. Særlig oppmerksomhet er rettet mot produkter fra bioteknologi, nemlig peptider og proteiner. Andre legemidler som foreslås er de som

30 absorberes dårlig oralt eller i stor grad metaboliseres i fordøyelseskanalen eller utsettes for første-trinns metabolisme i leveren.

Nasaladministrering anses å være lovende av følgende grunner.

1. Nesen har et stort overflateareal tilgjengelig for absorpsjon av legemiddel på grunn av dekningen av epiteloverflaten av tallrike mikrototter.

2. Subepitellaget er svært vaskulært.

3. Blodet fra venene i nesen går direkte inn i den systemiske sirkulasjon og unngår derfor tapet av legemidlet ved førstetrinns metabolisme i leveren.

En lang rekke legemidler er nå utprøvet på biotilgjengelighet etter tildeling via den nasale rute. Noen legemidler viser seg å bli absorbert effektivt og viser en biotilgjengelighet sammenlignbar med den intravenøse rute. Imidlertid viser de fleste legemidler lav biotilgjengelighet når de administreres intranasalt, men der finnes unntak.

10 Det naturlige steroidet progesteron er stort sett ineffektivt når det administreres oralt. Når det administreres via den nasale rute absorberes den effektivt med en biotilgjengelighet lignende den for en intravenøs injeksjon; maksimal konsentrasjon framkommer etter omtrent 6 minutter. Dersom progesteronet administreres oralt antyder publiserte data at biotilgjengeligheten er i størrelsesorden 1,2 % sammenlignet med i.v. administrering (1). Det andre eksemplet er betablokkeren propranolol. Dette legemidlet metaboliseres i stor grad i leveren og muligens i tarmveggen når det administreres oralt. Når legemidlet administreres intranasalt i en enkel oppløsning, oppnås nivå i plasma som er identiske med de som oppnås med intravenøs administrering (2).

Insulin, et legemiddel som har gjennomgått utstrakte studier med hensyn til intranasal tilførsel, kan tilføres via den nasale membran, men absorpsjons-effektiviteten er normalt omtrent 5% av den gitte dose. Absorpsjonen kan forbedres ved bruk av såkalte absorpsjons-fremmende midler. I en studie utført av Salzman ble insulin administrert i nærvær av et tensid, Laureth 9 (3). Det ble ikke bare oppnådd en klar sammenheng mellom dose og respons, men også maksimalt nivå ble oppnådd raskt. Styrken på det intranasale insulin var omtrent 1/10 av intravenøst administrert insulin. Det er klart at dersom insulin kan tilføres pasienter på sikker og pålitelig måte ved nasaladministrering, kan slike systemer ha potensiale for at administrering skjer sammen med måltidene ved type 1.diabetes.

Chien og Chang (4) har oppsummert absorpsjonskapasiteten for den nasale rute for forskjellige legemidler. En kan legge merke til at de materialer som har høy molvekt, f.eks. peptider og proteiner, vanligvis absorberes dårlig via den nasale rute. Det skal også bemerkes det faktum at de fleste av forbindelsene, både de med høy og lav

absorpsjonseffektivitet, viser maksimale plasmanivå i løpet av omtrent 30 minutter. Således synes absorpsjonen, uansett grad, å være rask, men ha kort varighet. Dette indikerer at legemidlet enten kan være fjernet fra absorpsjonsstedet eller, dersom det er tilstrekkelig labilt, degraderes før ytterligere absorpsjon inntreffer.

5

Faktorer som påvirker systemisk absorpsjon av legemidler fra nesen.

Den raske clearance av nasalsprayer fra nesen kan muligens antas å være en hovedfaktor som påvirker tap av legemidler fra potensielle absorpsjonsoverflater. I tillegg, for tilfellet med peptider og proteiner, kan en systematisk nedbrytning av legemidlet

10 og molekylstørrelse også spille en rolle ved lav biotilgjengelighet.

De fleste som arbeider innen feltet nasal administrering har forsøkt å overvinne problemet med ineffektiv absorpsjon av legemidlet ved bruk av absorpsjonsfremmende midler, f.eks. i form av gallesyresalter eller tensider for å modifisere egenskapene til nese-slimhinnen for derved å forbedre opptak. Et typisk eksempel er undersøkelsen

15 beskrevet av Hanson et al (5) angående nasal administrering av peptidet lakse-kalsitonin. Her viste hun klart at en økning i kalsitonin i plasma kunne opptre når legemidlet ble administrert i kombinasjon med et tensid. Således opptrådte bare spormengde av kalsitonin i plasma uten tensider, mens AUC økte 10 ganger ved bruk av et tensid. På lignende måte er den påfallende effekten av økt mengde gallesyresalter

20 (natriumdeoksyholat) ved absorpsjon av insulin godt beskrevet av Gordon og andre (6).

Kontrollerte avgivningssystemer for nesen:

Illum et al (7) har valgt mikrosfærer laget av materialer som er kjent for å swelle i kontakt med vann, for å danne et gel-liknende lag med gode bioadhesive egenskaper.

25 Således, på grunn av deres hefteevne til nese-slimhinna kan de gjerne modifisere clearance. De utvalgte materialene inkluderte albumin, stivelse og ionebytter-materialet DEAE-Sephadex. Størrelsen av mikrosfærene var i størrelsesorden fra 40 til 60 mikrometer i diameter.

30 Clearance av merkede mikrosfærer fra nesen er studert i frivillige forsøkspersoner ved bruk av en standard-teknikk gamma-skintigrafi (7). Mikrosfærene var merket med teknetium-99m og tilført nesen i pulverform ved bruk av en nasal insuflator.

Væske- og pulverformuleringer ble brukt som kontroll. Stillingen på nesene til de

frivillige ble holdt konstant på kolinatoren på gamma-kameraet ved bruk av en spesielt utformet templat. Skinti-scanninger ble registrert over en egnet tidsperiode, og interessante områder ble utformet rundt avsetningsstedet i det nasale hulrom. Tid-aktivitets-profilene viste klart at nesespray og nesepulverformuleringer fjernes ganske raskt (med en tid for 50% clearance ($T_{50\%}$) på 15 minutter). Til sammenlikning har mikrosfære-systemer mye lengre clearance. Etter tre timer er fortsatt omtrent 50% av albumin og stivelsesmikrosfærene og 60% av DEAE-Sefadex-mikrosfærene fortsatt til stede på aplikasjonsstedet. Clearance-halveringstid fra det første avsetningsstedet for DEAE-Sefadex-mikrosfærer ble beregnet til å være omtrent 4 timer. Nå utforskes det om disse mikrosfæresystemene vil frembringe en forbedring av biotilgjengeligheten for utvalgte legemiddelsubstanser innbefattet peptider og proteiner. Det forventes at en redusert clearancehastighet og mulig beskyttelse av labile legemidler mot enzymatiske angrep vil øke absorpsjonseffektiviteten vesentlig.

I forhold til kontrollerte avgivelsessystemer og nesen er det interessant å notere seg at Nagai og kolleger (8) har vært i stand til øke absorpsjonen av insulin etter nasal tilføring til hunder ved bruk av en geldannende formulering. Insulin ble blandet med et cellulose lignende materiale og karbopol 934 (polyakrylsyre) og tilført som en pulverformet formulering. På lignende måte har Morimoto og kolleger (9) brukt en nasal del (nok en gang polyakrylsyre) som et avgivelsessystem for insulin og kalsitonin i rotter. Oppnåelsen av en vesentlig reduksjon i plasmaglykose-nivå sammenliknet med den normale formuleringen indikerer en økning i absorpsjonseffektiviteten.

Et hovedproblem i legemiddel-avgivelse er den effektive absorpsjonen av materialer med høy molvekt slik som proteiner og peptider gjennom biologiske membraner. Normalt tas ikke slike molekyler opp av kroppen dersom de tilføres fordøyelseskanalen, på kinnslimhinnen, på den rektale slimhinne, den vaginale slimhinne eller administrert som et intranasalt system.

Som diskutert ovenfor og av Chien og Chang (4) har faste studier med insulin vist at absorpsjonen av en slik forbindelse kan økes dersom den tilføres sammen med et såkalt absorpsjonsfremmende middel. Disse absorpsjonsfremmende midlene omfatter tensider av ikke-ionisk type såvel som forskjellige gallesyresalt-derivater. Økt membran-permeabilitet i nærvær av disse typer tensider er ikke uventet, da litteraturen innen feltet gastroenterologi inneholder en lang rekke slike absorpsjonsfremmende midler. (se Davis

et al (10) for en oversikt). Slike materialer trenger imidlertid ikke å være akseptable for den kroniske administrering av farmakologiske preparater på grunn av deres irriterende effekt på membraner. Dette omfatter ikke bare de ikke-ioniske varianter av tensider, men også gallesyresalter og gallesyresalt-derivater (f.eks. fusidinsyre).

5

Formål

Det er et formål for den foreliggende oppfinnelsen å an vise en framgangsmåte for framstilling av et legemiddel-avgivelsessystem som forbedrer avgivelsen av materialer med høy molvekt.

10

Oppfinnelsen

Dette formål oppnås med en framgangsmåte ifølge den karakteriserende del av patentkrav 1. Ytterligere fordelaktige trekk framgår av de tilhørende uselvstendige kravene.

- 15 Den foreliggende oppfinnelsen angår en framgangsmåte for framstilling av et system for administrering av aktive medikamenter gjennom slimhinner. I henhold til oppfinnelsen blandes et flertall mikrosfærepartikler inneholdende et aktivt medikament med et materiale med evne til å øke biotilgjengeligheten av det aktive medikamentet gjennom en slimhinne membran, hvorved materialet velges fra gruppen bestående av
- 20 ionisk tensid, ikke-ionisk tensid, chelaterende middel, acylglycerol, fettsyre, fettsyresalt, tyloxapol, biologisk tensid, enamin, malonat, salicylat, gallesyresalt og analoge, fusidat, mucolytisk middel, peptidase-inhibitor og lysfosfolipid, eller innarbeide materialet og det aktive medikamentet i mikrosfærene under framstilling av mikrosfærepartiklene.

- 25 Materialet angitt foran fremmer biotilgjengeligheten av det aktive medikament gjennom slimhinner.

Fortrinnsvis administreres partiklene i form av et pulver ved spraying og har bioadhesive egenskaper.

- 30 Tensidet bør ikke frembringe noen problemer i form av kronisk giftighet, fordi tensidet skal være ikke-irriterende og/eller metaboliseres raskt, *in vivo*, til en normal cellebestanddel som ikke har noen irriterende effekt av betydning. Et foretrukket tensid er lysolecitin og andre lysofosfatidyl-forbindelser, slik som lysofosfatidyl-etanolamin, lysofosfatsyre etc. En egnet konsentrasjon er fra 0.02 til 10%.

Utførelsesformer av den foreliggende oppfinnelsen er beskrevet ved hjelp av eksempler med henvisning til de vedlagte figurer hvor:

fig. 1 illustrerer i grafisk form effekten ved bruk av det naturlige tensid på opptak av et legemiddel i et første eksperiment;

5 fig. 2 illustrerer i grafisk form effekten ved av bruk av det naturlige tensid og administrering i form av mikrosfærer;

fig. 3 illustrerer i grafisk form effekten ved bruk av det naturlige tensid i et rottestudie-forsøk;

10 fig. 4 og 5 viser plasmaglykose-nivå for kaniner tilført intranasale doser av ZnNa-insulin;

fig. 6 viser plasmaglykose-nivå oppnådd for intranasal administrering av insulin i forskjellige former;

fig. 7 viser tilsvarende kurver for plasmainsulin-nivå;

fig. 8 viser data fra rotte-eksperimentet med liten hGH administrert intranasalt; og

15 fig. 9 viser data fra saue-eksperimenter med hGH administrert intranasalt.

Lysofosfatider framstilles ved hydrolyse av fosfolipider. Slike materialer er overflateaktive og danner micelle-strukturer. I den foreliggende oppfinnelsen tilsettes lysolecitin og andre lysofosfatider til det aktive legemidlet for å fungere som et potensielt absorpsjonsfremmende middel for legemiddel-avgivelse. Lysofosfatididylcholin forandrer 20 permeabiliteten hos membraner og muliggjør økt opptak av proteiner og peptider inkludert, f.eks., insulin, humant veksthormon og andre produkter fra bioteknologi og rekombinant DNA-teknologi. Etter administrering konverteres lysofosfatidene av cellene i den endotele foring av slimhinnen til de intakte fosfatider som er normale cellebestanddelene (se de Vries et al (11). (Lysolecithin i seg selv er også tilstede i 25 cellemembraner i svært små mengder (12)). Denne raske og effektive konvertering av lysofosfatider til de komplette fosfatidstrukturer fører til betydelig reduserte uheldige reaksjoner og bieffekter i form av irritasjon og giftighet.

Legemidlet som skal administreres til en slimhinneoverflate i fordøyelseskanalen, kjønnskanalen eller nesen eller lungene administreres som et mikrosfære-system.

30 Fordelen ved å bruke bioadhesive mikrosfæresystemer for administrering til slimhinneoverflaten er at slike systemer tillater lengre kontaktperioder, særlig dersom mikrosfærene degraderes langsomt. Dette er særlig tilfelle for nasal administrering av

legemidler opptatt i mikrosfærer framstilt fra naturlige materialer, slik som albumin, gelatin og særlig stivelse. I noen tilfeller kan den lengre kontaktiden alene sørge for en tilfredsstillende forbedring i biologisk tilgjengelighet.

Et foretrukket promotormateriale er materialet lysiofosfatidylcholin framstilt fra egg
5 eller soyalecitin. Andre lysofosfatidylcholiner som har forskjellige acylgrupper såvel som lysoforbindelser framstilt fra fosfatidyl-etanolaminer og fosfatidinsyre som har lignende membran-modifiserende egenskaper kan brukes. Acylkarnitin (f.eks. palmitoyl-DL kanitin-klorid) er ett alternativ.

Andre forbedringsmidler som vil være passende for den foreliggende oppfinnelsen
10 omfatter chelaterende midler (EGTA, EDTA, alginater), tensider (særlig ikke-ioniske materialer), acylglycerol, fettsyre og salter, tyloxapol og biologiske tensider listet i Sigmakatalogen, 1988 side 316 til 321. Også midler som modifiserer membranfluiditeten og -permiabiliteten vil være passende slik som enaminer (f.eks. fenylalaninenamin av etylacetoacetat), malonater (f.eks. dietylenoksymetylenmalonat), salicylater, gallesyre-
15 salter og analoger, og fusidater. Egnede konsentrasjoner vil være opptil 10%.

Samme konseptet for avgivelse av legemidler innlemmet i eller på en bioadhesiv mikrosfære med et tilsatt farmasøytisk hjelpemiddel ville gjelde systemer som inneholdt aktive legemidler og mukolyptiske midler, peptidaseinhibitorer eller irrelevant polipeptidsubstrat alene eller i kombinasjon. En egnet mukulytt ville være tiol-
20 inneholdende forbindelser slik som N-acetylcystein og derivater derav. Peptid-inhibitorer inkludert aktinonin, amastatin, antipain, bestatin, kloracetyl-HOLeu-Ala-Gly-NH₂, diproton A og B, ebelacton A og B, E-64, leupeptin, pepstatin A, fisforamidon, H-Thr-(tBu)-Phe-Pro-OH, aprotinin, kallikrein Inh. 1, chymostatin, benzamidin, chymotrypsin Inh.11, trypsin Inh. 111-O. Egnede konsentrasjoner vil være fra 0.01 til 5%.

25 Mikrosfærene bør være av en størrelse mellom 10 og 100 mikrometer og framstilt fra et biokompatibelt materiale som vil danne en gel i kontakt med slimhinne-overflaten. Mikrosfærer av stivelse (kryssbundet om nødvendig) er et foretrukket materiale. Andre mikrosfærer omfatter gelatin, albumin og kollagen. Framstilling av disse mikrosfæresystemene er godt beskrevet i den farmasøytiske litteraturen (se f.eks. Davis et
30 al (13)). Emulsjons- og faseparasjons-metoder er begge egnete. De ferdige mikrosfærene kan modifiseres ved kjemisk kryssbinding eller varmebehandling. Det aktive midlet kan innarbeides i mikrosfærene under deres framstilling eller sorberes inn i

eller på systemet etter framstilling. Effektiviteten til systemet kan kontrolleres ved hjelp av den fysiske naturen til mikrosfærematrisen og f.eks. kryssbindingsgrad. Mikrosfære-avgivelsessystemet kan også omfatte mikrosfærer framstilt av det aktive peptidet eller proteinet selv slik som insulinmikrosfærer.

- 5 F.eks. utføres framstillingen av stivelse-insulinsystemet ved å tilsette de frysetørkede stivelsesmikrosfærene til en fosfatbuffer-løsning ($\text{pH}=7.3$) inneholdende insulin og forbedringssystemet, blande i 1 time og frysetørring inntil det oppnås et lett pulver. En typisk konsentrasjon av insulin og forbedringssystem (f.eks. lysolecitin) vil være hhv. 1 IU/mg mikrosfære og 0.08 mg/mg mikrosfære. Mikrosfærene kan tilføres både mindre
- 10 og mer legemiddel og forbedringssystem.

- Ved bruk av kombinasjonen av mikrosfærer og forbedringsmidler er det funnet at de bioadhesive mikrosfæresystemene har evnen til å forbedre biotilgjengeligheten av polare legemidler i stor grad når de administreres sammen med et forbedringssystem. Denne forbedringen er mye større enn forbedringen som kan oppnås ved forbedringsmidlet i seg
- 15 selv. Denne forsterkningen av forbedringsevnen antas å skyldes bedre retensjon av avgivelsessystemet i nesehulen. Konseptet har vist seg å være vellykket for forskjellige legemidler, slik som gentamicin, insulin og veksthormon. Forbedringsmidlet valgt for disse studiene har vært lysofosfatidylcholin (beskrevet ovenfor). Konseptet bør fungere like godt med andre forbedringssystemer (se liste annet sted) og med andre legemidler
- 20 slik som:

insulin (heksamere/dimere/monomere former)

glukagon

veksthormon (somatotropin)

kalsitonin og syntetiske modifikasjoner derav

- 25 enkephaliner

interferoner (særlig alfa-to interferon for behandling av vanlig forkjølelse)

LHRH og analoger (nafarelin, buserelin, zolidex)

GHRH (hormon for frigjøring av veksthormon)

sekretin

- 30 nifedipin

bradykin antagonister

GRF (vekstfrigjørende faktor)

THF

TRH (hormon for frigjøring av tyrotropin)

ACTH analoger

IGF (insulinliknende vekstfaktorer)

5 CGRP (kalsitonin-gen-relatert peptid)

atrial natriuretic peptid

vasopresin og analoger (DDAVP, lypressin)

antibiotika

metoklopramid

10 migrene-behandling (dihydroergotamin, ergometrin, ergotamin, pizotizin)

nasale vaksiner (særlig AIDS-vaksine)

faktor VIII

- Antibiotika og antimikrobielle midler slik som tetrasyklin-hydroklorid, leucomycin,
- 15 penicillin, penicillinderivater og ertromycin, kjemoterapeutiske midler, slik som sulfatiasol og nitrofurason; lokale anestetika, slik som bensocain; vasokonstriktorer, slik som fenyleprin-hydroklorid, tetrahydrosolin-hydroklorid, nafasolinnitrat, oksymetasolin-hydroklorid og tramasolin-hydroklorid; kardiotoniske midler slik som digitalis og digoksin; vasodilaterende midler, slik som nitroglyserin og papaverin-hydroklorid;
- 20 antiseptiske midler, slik som klorheksidin-hydroklorid, heksylresorcinol, dequaliniumklorid og etakridin; enzym, slik som lysosym-klorid; deksranase; benmetabolisme-regulerende midler, slik som vitamin D₃ og aktivt vitamin D₃; kjønns hormoner; blodtrykksregulerende midler; beroligende midler; og anti-tumormidler.

- Steroide anti-betennelsesmidler, slik som hydrokortison, prednison, flutikason,
- 25 predonisolon, triamcinolon, triamcinolon-acetonid, dexametason, betametason, beclometason, og beclometason-dipropionat; ikke-steroide anti-betennelsesmidler, slik som acetaminofen, aspirin, aminopyrin, fenylobutazon, mefenam-syre, ibuprofen, diklofenac-natrium, indometacin, colchicin, og probenocid; enzymatiske betenneshemmende midler, slik som chymotrypsin og bromelain-seratiopeptidase; anti-
- 30 histaminer, slik som difenhydramid-hydroklorid, klor-feniramin-maleat og chlemastin; anti-allergiske midler (hostestillende, slimløsende antiasmatiske midler), slik som natriumkromglycat, codeinfosfat, og isoproterol-hydroklorid.

Administrering.

Mikrosfærene kan administreres via den nasale rute ved bruk av en nasal innblåsningsanordning. Eksempel på disse er allerede i bruk for kommersielle pulversystemer beregnet for nasal anvendelse (f.eks. Fisons Lomudal System). Detaljer vedr. andre anordninger kan finnes i den farmasøytiske litteraturen (se f.eks. Bell, A. Intranasal Delivery devices, in Drug Delivery Devices Fundamentals and Applications, Tyle P. (ed), Dekker, New York, 1988).

Studier av nasal avgivelse på dyr.

10 Følgende studier av nasal administrering i dyr (rotter, kaniner og sauer) er utført for å dokumentere oppfinnelsen.

Gentamicin:

Legemidlet gentamicin ble valgt som en prøvesubstans. Denne polare forbindelsen er 15 kjent for å absorberes dårlig når den administreres inn i nesen (se f.eks. Duchateau et al (17)) og den biologiske tilgjengeligheten kan forbedres ved tilsetning av gallesyresalter.

Rottestudier:

In situ rottemodellen til Hirai et al (14) ble brukt slik som modifisert av Fisher et al 20 (15). Hannrotter av typen Wistar på omtrent 200 gram ble bedøvet ved innsprøyting av 60 mg/kg pentobarbiton (Sagatal, 60 mg/ml) i bukhinnen. Rottene ble trakeotomisert, spiserøret lukket og en kanyle ble satt inn i halsårearterien.

Et volum av gentamicin-oppløsningen inneholdende 0.5 % av legemidlet med og uten tilsetning av lysofosfatidylcholin (LPC) (0.2 %) ble dryppet inn i nesehulen. Blodprøver 25 ble trukket ut fra halspulsåren ved 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 og 120 min. etter administrering av legemidlet. Innholdet av gentamicin ble bestemt ved EMIT-metoden (16). Effekten av LPC-promotoren er vist i fig. 1. Administreringen av gentamicin-oppløsning alene resulterte i dårlig biotilgjengelighet, mens tilsetningen av promotorsystemet frambrakte en femdobling av det maksimale nivå. AUC'ene (fra t=0 30 til t=120 min.) var henholdsvis 128 og 557 mikrogram min/ml.

Sauestudier:

Sauer av krysningsrase (Suffolk og Texel) ble delt inn i grupper på 3 og 2.

Gjennomsnittsvekta av sauene var omtrent 40 kg.

- Dyrene ble ikke fastet før administrering av gentamicin. Et iboende Viggo secalon
5 universalt sentralt venekateter med indre diameter 1.2 mm med en secalon universal-
strømningsbryter ble plassert i den høyre halsvenen på hvert dyr på den første dagen av
studien og ble når nødvendig holdt åpen ved skylling med heparinisert normal saltvæske
(50 IU/ml). Kateteret ble fjernet etter at studien var ferdig. For intranasal administrering
ble sauen bedøvet med en i.v. dose av Ketamin-hydroklorid på 2 mg/kg for å forhindre
10 nysing under administrering. Bedøvelsen varte i omlag 3 min. Dyrene som fikk
gentamicin intravenøst ble også bedøvet.

- For den intranasale administrering av oppløsningene, ble en "blue-line" navlestreng-
kanyler med lengde 35 cm (størrelse 6 FG) satt inn i neseboret til sauen til en
forhåndsbestemt dybde på 10 cm før tilføring av oppløsningen fra en sprøyte på 1 ml.
15 For intranasal administrering av de pulverformede formuleringene, ble en BOC
luftrørslange (rød gummi, oppbrettet) på 6.5 mm fylt med pulverformuleringen og
deretter innsatt i neseboret til sauen til en forhåndsbestemt dybde på 6 cm før pulveret ble
blåst inn i nesehulen.

- Den første gruppen sauer (n=2) ble gitt 0.25 ml gentamicin-oppløsning (386
20 mg/ml)(5.0 mg/kg) i hvert nesebor. Den andre gruppen (n=3) fikk 0.25 ml gentamicin-
oppløsning (386/ml) (5.0 mg/kg) inneholdende 2 mg/ml LPC i hvert nesebor. Den tredje
gruppen (n=3) fikk 5.0 mg/kg gentamicin og 0.2 mg/kg LPC i kombinasjon med
stivelsesmikrosfærer (1.9 mg gentamicin/mg stivelsesmikrosfærer). Den siste gruppen
med sauer (n=3) ble gitt 2 mg/kg gentamicin administrert intravenøst som en oppløsning
25 (40 mg/ml) gjennom halsvenen. Blodprøver (2 ml) ble tatt fra halsvenen ved 0, 8, 16,
24, 32, 45, 60, 90, 120, 180 og 240 min. etter legemiddeltilførsel. Serumet ble separert
ved sentrifugering og prøvene lagret ved minus 20°C inntil de ble analysert. Intet heparin
ble tilsatt til noen av prøvene. Gentamicin-nivået ble bestemt ved EMIT-teknikken (16).

- En dramatisk effekt kan observeres når gentamicinet og promotoren administreres i
30 form av stivelses-mikrosfære-formuleringen, med høyeste nivå i blodet på 6.3 µg/ml
sammenlignet med 0.4 µg/ml for gentamicinoppløsning. Kombinasjonen av mikrosfærer
pluss LPC-forbedrende midler frembringer en profil for blodnivå versus tid som er svært

lik den som oppnås når gentamicin tilføres intravenøst (fig. 2).

Som et resultat av dosene gitt, er biotilgjengeligheten for intranasalt tilført gentamicin i kombinasjon med LPC-promotoren og geldannende mikrosfæresystem 57.3% sammenlignet med gentamicin gitt ved i.v. tilførsel.

5

Insulin

I alle dyrestudiene ble glykoseplasma-nivået analysert ved hjelp av glykose-oksidasemetoden. Plasmainsulin-nivåene ble bestemt i kanin- og saue-eksperimentene ved hjelp av radioimmunologiske forsøk ved bruk av en dobbel-antistoff-teknikk.

10

Rottestudier:

In situ modellen til Hirai (som modifisert av Fisher) ble brukt for å studere nasalabsorpsjonen av insulinet ved bruk av ikke-diabetiske Wistar-hannrotter på 150 gr. fastende natten over. Rottene ble anestisert med en liten i.p. injeksjon på 0.25 ml med

15 Pentobarbiton (60 mg/ml).

En 250 IU/ml oppløsning av sink (Zn)-humaninsulin ble framstilt i en buffer (1/75 M Na_2HPO_4) med pH 7.3. I noen forsøk ble 0.2% LPC eller for sammenligning 1% glykodeoksyholat (GDC) tilsatt til blandingen som absorpsjonsfremmende midler.

Eksperimentene ble reproduisert (n=4). 10 ml ble tilført i nesehulen tilsvarende 16.67

20 IU/kg (2.5 IV/rotte). Blodprøver 0.2 ml) ble samlet i 5 ml fluoridoksalat-rør ved 10.6 og 2 minutter før tilførsel og ved 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240 og 300 min. etter tilførsel. Blodet ble erstattet med saltoppløsning tilført gjennom halsvenen.

Fig. 3 viser glykosenivåene for rotter gitt intranasale doser av Zn-insulinoppløsning, Zn-insulinoppløsning i kombinasjon med 0.2% LPC eller Zn-insulinoppløsning i

25 kombinasjon med 1% GDC. Resultatene indikerer at insulin gitt intranasalt som en enkel oppløsning ikke medfører noen effektiv reduksjon i plasmaglykosenivået, mens tilsetning av et promotorsystem, slik som LPC, forårsaker en rask og betydelig reduksjon i målte plasmanivåer. LPC-promotorsystemet i en konsentrasjon på 0.2% kan sees å ha tilsvarende effekt som 1% gallsalt i denne in situ-modellen hvor flimmerhår-

30 rensemekanismen er svekket.

Kaninstudier

Preparater av ZN-insulin (hovedsakelig heksamere form) eller Na-insulin (hovedsakelig

monomer/dimer-former) ble tilført nasalt til kaniner enten som fritt insulin eller som et mikrosfære-avgivelsessystem med lysofosfatidylcholin (LPC) som promotor.

Eksperimentene ble reproduisert ($n=4$).

Ikke-fastende New Zealand hvite hunnkaniner med gjennomsnittsvikt på 3.5 kg ble
5 brukt i denne studien.

En 40 IU/ml Zn- eller Na-humaninsulin-oppløsning ble framstilt i en buffer (1/75 M Na_2HPO_4) med pH 7.3-7.4. I noen eksperimenter var det tilsatt 0.2 % LPC.

Totalt 200 mikroliter av oppløsningen (100 mikroliter i hvert nesebor) ble tilført intranasalt tilsvarende omtrent 2.3 IU/kg ved hjelp av en Eppendorf-pipette.

10 Kaninene ble administrert s.c. med insulin ved 0.8 IU/kg eller 0.6 IU/kg fra henholdsvis en 14 IU/ml eller 10 IU/ml vandig oppløsning. Dosene av stivelsesmikrosfærer og insulin var fastsatt til henholdsvis 2.5 mg/kg og 2.5 IU/kg. Dosene av LPC var 0.2 mg/kg. Den gjennomsnittlige vekten av kaninene var 3.5 kg.

25 mg mikrosfærer ble plassert i en liten glassampulle og 250 mikroliter av en 100
15 IU/ml insulinoppløsning (Na- eller Zn-insulin) ble tilsatt etterfulgt av 2 mg LPC og 250 mikroliter destillert vann. Mikrosfærene fikk deretter stå i to timer ved romtemperatur i kontakt med insulinoppløsningen før frysetørrking.

Omtrent 15 mg av det frysetørkede pulveret fra hver enkelt ampulle ble fylt i tilførselsrøret, og dette ble lagret i en eksikator inntil bruk.

20 Kaninene ble gitt de foreslåtte doser i nesehulen uten sedatering. Hver kanin ble holdt på rygg under, og i 10 sekunder etter tilføringen for å forsikre avgivelsen av den pulverformede formuleringen. Blodprøve på 200 mikroliter og 2 ml for henholdsvis glykose- og insulin-bestemmelse, ble tatt fra ørekantvenen 10 og 5 minutter før tilførselen og 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120 og 180 minutter etter administrering. For insulinanalysene
25 ble blodprøvene blandet forsiktig i 5 ml hepariniserte (Li Heparin) rør. For glykoseanalyser ble blodprøvene blandet forsiktig i 5 ml fluoridoksalatrør. Blodprøvene for glykoseanalyser ble lagret på knust is i påvente av umiddelbare analyser. Blodprøvene for insulinanalyser ble sentrifugert ved 3000 opm og plasma samlet ble lagret ved minus 20°C i påvente av analyser.

30 Fig. 4 og 5 viser plasmaglykose-nivåene for kaniner gitt intranasale doser av stort sett n-insulin eller Na-insulin, henholdsvis som enkle oppløsninger, i enkle oppløsninger med tilsetning av 0.2% LPC eller i kombinasjon med stivelsesmikrosfærer og LPC. Det er

også vist plasmaglykosenivå for kaniner injisert s.c. med Zn-insulin eller Na-insulin. Resultatene viser at for begge typer av insulin (heksamer og monomer/dimer form) senkes plasmaglykosenivåene vesentlig ved administrering av insulin i kombinasjon med LPC-promotorsystemet sammenlignet med de enkle insulinoppløsningene. Imidlertid observeres enda mer drastiske reduksjoner i plasmaglykosenivåene når insulinet administreres i kombinasjon med mikrosfærene og promotorsystemet. Formen på plasmaglykosekurvene for de sistnevnte systemer er overraskende lik de som fremkommer for s.c. administrering, selv om dosene er 2.5 IU/kg sammenlignet med 0.6 IU/kg for s.c. administrering.

10

Sauestudier

Zn-krystallisert høyt rensert halvsyntetisk humaninsulin, hvor hvert mg rent protein er ekvivalent med 28 IU insulin. Insulinoppløsninger ble framstilt i 1/75 M fosfatbuffer (pH 7.3).

15 15 sauer av krysningsrase (Suffolk og Texel) ble brukt i denne studien. Dyrene ble øremerket og veiet før studien:

Gjennomsnittsvekten av sauene ($\pm$ SD) var 35.9 kg ($\pm$ 2.7 kg). Dyrene ble ikke fastet før tilførsel av insulin på grunn av at det er vanskelig å oppnå dette i praksis og på grunn av muligheten for å indusere insulinresistens i dyrene. Det siste uttrykket betyr at under slike betingelser vil ikke saueblod-glykosenivåene reagere så raskt på det tilførte insulin.

20

Et Viggo cecalon universalt sentralt venekateter med 1.2 mm indre diameter med en en secalon universal strømningsbryter ble plassert i den høyre halsvenen på hvert dyr den første dagen av studien og ble når nødvendig holdt åpen ved skylling med heparinisert normal saltvæske (50 IU/ml). Kateteret ble fjernet etter fullføring av studien.

25

Framstilling av insulinoppløsninger og pulveret

Insulinbasis-oppløsninger ble framstilt i 1/75 M fosfatbuffer (pH 7.3). Disse ble så brukt som flytende formuleringer for intravenøs og intranasal administrering, og også ved framstilling av de lyofiliserte mikrosfæreformuleringene. De sistnevnte ble framstilt ved å dispergere den nødvendige mengde av mikrosfærer i insulinoppløsningen (+ eventuell LPC), omrøring i en time ved romtemperatur, og deretter frysetørking for å oppnå pulverformuleringen.

30

Administrering av insulinformuleringer:

Insulin ble administrert i 0.1 IU/kg intravenøst, i 0.2 IU/kg subkutan, og i to IU/kg nasalt. 3 sauer ble brukt for hvert forsøk:

- (1) intravenøs tilførsel av insulin som en vandig oppløsning framstilt i 4 IU/ml: sauene J, K, og L den 24/11/87.
- (2) intranasal tilførsel av en vandig oppløsning, framstilt i 200 IU/ml: sauene A, B og C den 24/11/87.
- (3) intranasal tilførsel av en vandig oppløsning, framstilt i 200 IU/ml i kombinasjon med 0.2% LPC (0.02 mg/kg): sauene B; E og F den 24/11/87.
- 10 (4) intranasal tilførsel av insulin i kombinasjon med stivelsesmikrosfærer (2.5 mg/kg) og LPC (0.20 mg/kg) som et lyofilisert pulver. For å framstille formuleringen ble 500 mg av Spherex dispergert i 30 ml 1/75 M fosfatbuffer (pH 7.3) inneholdende 400 IU insulin og 40 mg LPC, blandet i en time, og deretter frysetørket: sauene MN og O den 26/11/87.
- 15 (5) intranasal tilførsel av stivelsesmikrosfærer (2.5 mg/kg) uten insulin. For å framstille formuleringen ble 500 mg Spherex dispergert i 30 ml 1/75 M fosfatbuffer (pH 7.3), blandet i 1 time, og deretter frysetørket: sauene G, H og I den 24/11/87.
- (6) Subkutan tilførsel av insulin som en vandig oppløsning framstilt i 4.2 IU/ml.
- For intranasal tilførsel av oppløsningene ble en "blue-line" navlestrengkanyle på 35 cm
20 lengde (størrelse 6 FG, Portex Ltd., Hythe, Kent, England) satt inn i neseboret på sauen til en forhåndsbestemt dybde på 10 cm før avgivelsen av oppløsningen fra en 1 ml sprøyte. For intranasal administrering av pulverformede formuleringer ble en BOC luførslange (rød gummi, oppbrettet) på 6.5 mm fylt med den pulverformede formuleringen og deretter satt inn i neseboret til sauen til en forhåndsbestemt dybde på 6
25 cm før pulveret ble blåst inn i nesehulen.
- For intranasal administrering ble sauen bedøvet med i.v. dose av ketaminhydroklorid i 2 mg/kg. Dette var ment som en motvirkning mot nysing hos dyret under administreringen. Bedøvingen varte i omtrent 3 min. Dyrene som mottok insulin via i.v. ruten ble også bedøvet for å motvirke enhver mulig effekt av ketamin på de målte
30 blodglykose- eller insulin-nivåene.
- Blodprøver på 5 ml ble samlet opp på knust is fra halsvenen til sauen med kanylen 15 og 5 minutter før administrering av insulinet og 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90,

120, 150, 180 og 240 minutter etter administrering. Hver blodprøve ble delt i 2 deler. For insulinanalyser ble det oppsamlete blodet (2.5 ml) blandet forsiktig i 5 ml heparinisert (Li heparin) rør. For glykoseanalyser ble det oppsamlete blodet (2.5 ml) blandet forsiktig i 5 ml fluoridoksalat-rør. Alle blodprøvene ble etter prøvetaking
5 bibeholdt på knust is, i påvente av sentrifugering som så ble utført ved 4°C og 3000 opm. Det oppsamlede plasma ble lagret ved minus 20°C i påvente av insulin- og glykoseanalyser (radioimmunologisk analyse for insulin).

Fig. 6 viser plasmaglykose-nivåene oppnådd ved intranasal administrering av en enkel gitt insulinoppløsning, av rene stivelsesmikrosfærer, av insulinoppløsning med tilsetning
10 av 0.2% LPC, insulin som en mikrosfære-formulering i kombinasjon med LPC og intravenøs tilførsel av insulin. Fig. 7 viser tilsvarende kurver for plasmainsulin-nivåer. Som en kan se fra rotte- og kaninstudiene har ikke insulinet tilført intranasalt som en enkel oppløsning noen effekt av betydning på plasmaglykosenivået, og mengden insulin som blir absorbert via denne ruten er faktisk svært lav. Ved tilsetning av
15 promotorsystemet (LPC) til formuleringen øker mengden insulin som fremkommer i sirkulasjonen og resulterer følgelig i et noe lavere plasmaglykosenivå. Tilførselen av insulinet i kombinasjonen med stivelsesmikrosfærene LPC resulterer i en 693% økning i AUC av plasmainsulin sammenlignet med en enkel nasal insulinoppløsning. Samtidig økes det maksimale insulinivået med 1040%. Den skarpe nivåtoppen opptrer etter 15-20
20 minutter og avtar raskt, slik som for intravenøst insulin. Den relative biotilgjengelighet for dette systemet er omtrent 25% sammenlignet med subkutan injisering av insulin.

Humant veksthormon

25 For alle eksperimenter ble det brukt biosyntetisk hGH. Plasmanivåene ble analysert ved bruk av en fast fase 2-punkts sandwich-ELISA-teknikk. Plasma ble analysert i 2 paralleller i en fortykning på 1/10 mot en standardoppløsning av B-hGH (0.17-7.0 ng/ml) framstilt i en antigen-inkubasjonsbuffer og også framstilt i den tilsvarende fortykning av plasma.

30

Rottestudier

Som tidligere ble eksperimentene utført ved bruk av in situ rotte-modellen beskrevet av

Hirai og modifisert av Fisher.

Ikke fastende Wistar hannrotter på omtrent 200 g ble delt inn i grupper på 4 og bedøvet ved en i.p. injeksjon av 0.35 ml pentobarbiton (60mg/ml).

- 3 forskjellige hGH preparater ble administrert til rottene, nemlig en 10 mg/ml
5 oppløsning av hGH i kaliumfosfatbuffer (1/75 M), pH=7.2, som tidligere med tillegg av 0.05% LPC og som før med tillegg av 0.5% LPC.

20 ml (1 mg/kg) av hvert av de tre preparatene ble administrert intranasalt ved hjelp av en plastslange.

- Alle eksperimentene ble reproduert. Blodprøver på 20 dråper ble samlet opp og lagret
10 på is ved tidspunktene 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240 og 300 minutter etter administrering. Plasmaet ble separert og lagret ved minus 20°C inntil analysing.

- Fra fig. 8 kan en se at hGH gitt intranasalt som en oppløsning uten et promotor-system ikke absorberes i noen betydelig grad via nesemembranen. Ved tilsetning av 0.5% LPC til oppløsningen ble imidlertid de resulterende maksimale plasmanivå øket fra omtrent 3.5
15 mg/ml til omtrent 57 nanogram/ml med en svært markant økning i AUC. Tilsetningen av en svært lav konsentrasjon (0.05%) av LPC har tilsynelatende ingen effekt på absorpsjon av hGH.

Sauestudier

- 20 12 sauer av krysningsrase (Suffolk og Texel) ble brukt i denne studien. Dyrene ble øremerket og veid før studien: Gjennomsnittsvekten av sauene ($\pm$ SD) var 35.8 kg ($\pm$ 3.0 kg).

- Et Viggo cecalon universalt sentralt venekateter med 1.2 mm indre diameter med en en secalon universal strømningsbryter ble plassert i den høyre halsvenen på hvert dyr på den
25 første dagen av studien og ble når nødvendig holdt åpen ved skylling med heparinisert normal saltvæske (50 IU/ml). Kateteret ble fjernet etter fullføring av studien.

hGH ble administrert i 34.2 mikrogram/kg (0.1 IU/kg) via den subkutane rute og i 307.5 mikrogram/kg (0.9 IU/kg) via den nasale rute. 3 sauer ble brukt i hvert eksperiment:

- 30 (1) subkutan administrering av hGH som en vandig oppløsning framstilt i 1.37 mg/ml (4 IU/ml).
(2) intranasal administrering av hGH som en vandig oppløsning framstilt i 17.57

mg/ml (51.43 IU/ml). En sau på 40 kg ville således bli gitt 0.35 ml av formuleringen i hvert nesebor (0.70 ml totalt).

(3) intranasal administrering hGH i kombinasjon med stivelsesmikrosfærer (2.5 mg/kg) og LPC 80.20 mg/kg) som et lyofilisert pulver. For å framstille formuleringen ble 500 mg Spheriks dispergert i 30 ml sterilt destillert vann inneholdende 61.5 mg hGH (180 IU) og 40 mg LPC, blandet i 1 time, og deretter frysetørket:

For den intranasale administrering av oppløsningene, ble en "blue-line" navlestrengkanyle med lengde 35 cm (størrelse 6 FG) satt inn i neseboret til sauene til en forhåndsbestemt dybde på 10 cm før tilførsel av oppløsningen fra en sprøyte på 1 ml. For intranasal tilførsel av de pulverformede formuleringene, ble en BOC luftrørslange (rød gummi, oppbrettet) på 6.5 mm fylt med pulverformuleringen og deretter innsatt i neseboret til sauene til en forhåndsbestemt dybde på 6 cm før pulveret ble blåst inn i nesehulen.

For de intranasale studiene er det nødvendig å bedøve sauene ved bruk av en i.v. dose av ketamin-hydroklorid i 2 mg/kg. Dette er ment å motvirke at dyret nyser under administreringen. Bedøvingen varte i omtrent 3 minutter.

Dyrene som ble gitt hGH subkutan ble også bedøvet for å motvirke enhver mulig effekt av ketamin på blodnivåene av hGH målt.

Blodprøve på 2 ml ble samlet opp i hepariniserte (Li heparin) rør på knust is fra halsvenen til sauene med kanylen før administrering av hGH og 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240 og 300 minutter etter administrering. Plasma som ble samlet opp ved sentrifugering (3000 opm ved 4°C) ble lagret ved minus 20°C i påvente av analysing ved ELISA-teknikken.

Fig. 9 viser de oppnådde hGH-nivåene for intranasal administrering av en enkel hGH-oppløsning, intranasal administrering av hGH i kombinasjon med mikrosfærer og LPC og subkutan injeksjon av hGH. Det kan fra resultatene konkluderes at hGH administrert intranasalt som en enkel oppløsning ikke absorberes i noen vesentlig utstrekning. Når hGH administreres i kombinasjon med mikrosfærer og LPC-promotor-systemet øker imidlertid hGH-plasmanivået betydelig. Således økes det maksimale plasmanivået fra omtrent 10 ng/ml til omtrent 55 nanogram/ml. Biotilgjengeligheten sammenlignet med subkutan injeksjon kan beregnes til omtrent 20%.

Referanser

1. Hussain A. Hirai S, og Bawarshi R.: "Nasal absorption of natural contraceptive steroids in rats-progesterons absorption", J.Pharm,Sci. 70, 1981,466-467.
2. Hussain A. Hirai S. and Bawarshi R.: "Nasal absorption of propanolol from
5 different dosage forms by rats and dogs", J. Pharm Sci.69, 1980. 1411-1413.
3. Salzman R., Manson J.E., Griffing C.T., Kimmerle R., Ruderman N., McCall A., Stoltz E.I., Mullin C., Small D., Armstrong J and Melly J.S.: "Intranasal aerosolized insulin", N.Eng J. Med. 312,1985, 1078-1084
4. ChienY.W. and Chang, S.F., "Intranasal Dry Delivery for Systemic Medications
10 CRC Critcal Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems", 4, 67 ug (1987).
5. Hanson M., Gazdick G., Cahill J. and Augustine M.: "Intranasal delivery of the peptide, salmon calcitonin", in S.S. Davis,L.Illum and E.Tomlinson: "Advanced Delivery Systems for Peptides and Proteins", Plenum Press, London, 1986,pp.233- 242.
6. Gordon G.F., Moses A.C., Silver R.D., Flier G.F. and Carey E.: "Nasal
15 absorption of insulin: enhancement by hydrophobic bile salts", Proc.Natl.Aced.Sci.USA 82, 1985, 7419- 7423.
7. Illum L., Jorgenson H., Bisgaard H., Krogsgaard O. and Rossing N.: "Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system.", Int.J.Pharmaceut.39, 189-199 (1987).
- 20 8. Nagai T., Nishimoto Y., Nambu N., Suzuki Y. and Sekine K.: "Powder dosage form of insulin for nasal administration", J.Control,Rel.1, 1984, 15-22.
9. Morimoto K., Morisaka K. and Kamada A.: "Enhancment of nasal absorption of insulin and calcitonin using polyacrylic acid gel", J.Pharm.Pharmacol. 37, 1985, 135-136.
- 25 10. S.S. Davis, L.Illum and E. Tomlinson (Eds): "Delivery systems for peptide drugs", Plenum,New York, 1987.
11. de Vries A.C.J., Batenburg F.F. and van Golde L.M.G. "Lysophosphatidylcholine: lysophosphatidylcholine acyltransferase in alveolar type II cells from fetal rat lung", Biochem.Biophys.Acta 833 (1985) 93-99.
- 30 12. Christiansen K. and Carlsen J.: "Reconstitution of protein into lipid vesicles using natural detergents", Biochim.Biophys.Acta 735 (1983) 225-233.
13. Davis S.S., Illum L, McVie J.G. and Tomlinson E. (eds): "Microspheres and Drug

Therapy, Pharmaceutical, Immunological and Medical Aspects", Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1983.

14. Fisher A.N., Brown K., Davis S.S., Par G.G. and Smith D.A.: "The effect of molecular size on the nasal absorption of water soluble compounds by the albino rat", J.Pharm. Pharmacol. 39, 1987,357-362.
15. Hirai S., Yashiki T., Matsuzawa T. and Mima H.: "Absorption of drugs from the nasal mucosa of rat", Int.J.Pharm. 7, 1981, 317-325.
16. O'Connell M.B., Hein K., Halstenson C. and Matzeke G.R.: "Heparin interference with tobramycin, netilmicin and gentamicin concentrations determined by EMIT", Drug Intell. Clin. Pharm. 18 (1984) 503-504.
17. Duchateau G.S.M.J.E., Zuidema F. and Merkus W.H.M.: "Bile salts and intranasal drug absorption", Int. J. Pharm. 31(1986) 193-199.

Patentkrav

15

1. Framgangsmåte for framstilling av et system for administrering av aktive medikamenter gjennom slimhinner, **k a r a k t e r i s e r t** ved å blande et flertall mikrosfærepartikler inneholdende et aktivt medikament med et materiale med evne til å øke biotilgjengeligheten av det aktive medikamentet gjennom en slimhinne-membran, 20 hvilket materiale velges fra gruppen bestående av ionisk tensid, ikke-ionisk tensid, chelaterende middel, acyl-glycerol, fettsyre, fettsyresalt, tyloxapol, biologisk tensid, enamin, malonat, salicylat, gallesyresalt og analoge, fusidat, mucolytisk middel, peptidase-inhibitor og lysfosfolipid, eller innarbeide materialet og det aktive medikamentet i mikrosfærene under framstilling av mikrosfærepartiklene.
- 25 2. Framgangsmåte ifølge krav 1, **k a r a k t e r i s e r t** ved at det anvendes mikrosfærer med en størrelse mellom 10 og 100 μm .
3. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, **k a r a k t e r i s e r t** ved at medikamentet og materialet absorberes i eller adsorberes 30 på mikrosfærepartiklene etter framstilling av sistnevnte.

4. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 3,
k a r a k t e r i s e r t ved at mikrosfærene framstilles av stivelse, stivelsesderivater, gelatin, albumin, kollagen, dextran eller dextranderivater.
5. Framgangsmåte ifølge krav 1,
5 **k a r a k t e r i s e r t** ved at mikrosfærene framstilles av selve det aktive medikament.
6. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 5,
k a r a k t e r i s e r t ved at mikrosfærene modifiseres ved kryssbinding.
7. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 6,
k a r a k t e r i s e r t ved at materialet anvendes i form av lysofosfatidylcholin.
- 10 8. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 7,
k a r a k t e r i s e r t ved at det som medikament anvendes et biologisk aktivt polypeptid eller derivater av dette med en molvekt fra 1000 til 300 000.
9. Framgangsmåte ifølge krav 8,
k a r a k t e r i s e r t ved at det som polypeptid anvendes insulin eller veksthormon.
- 15 10. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 9,
k a r a k t e r i s e r t ved at systemet framstilles for intranasal administrering.

1/9

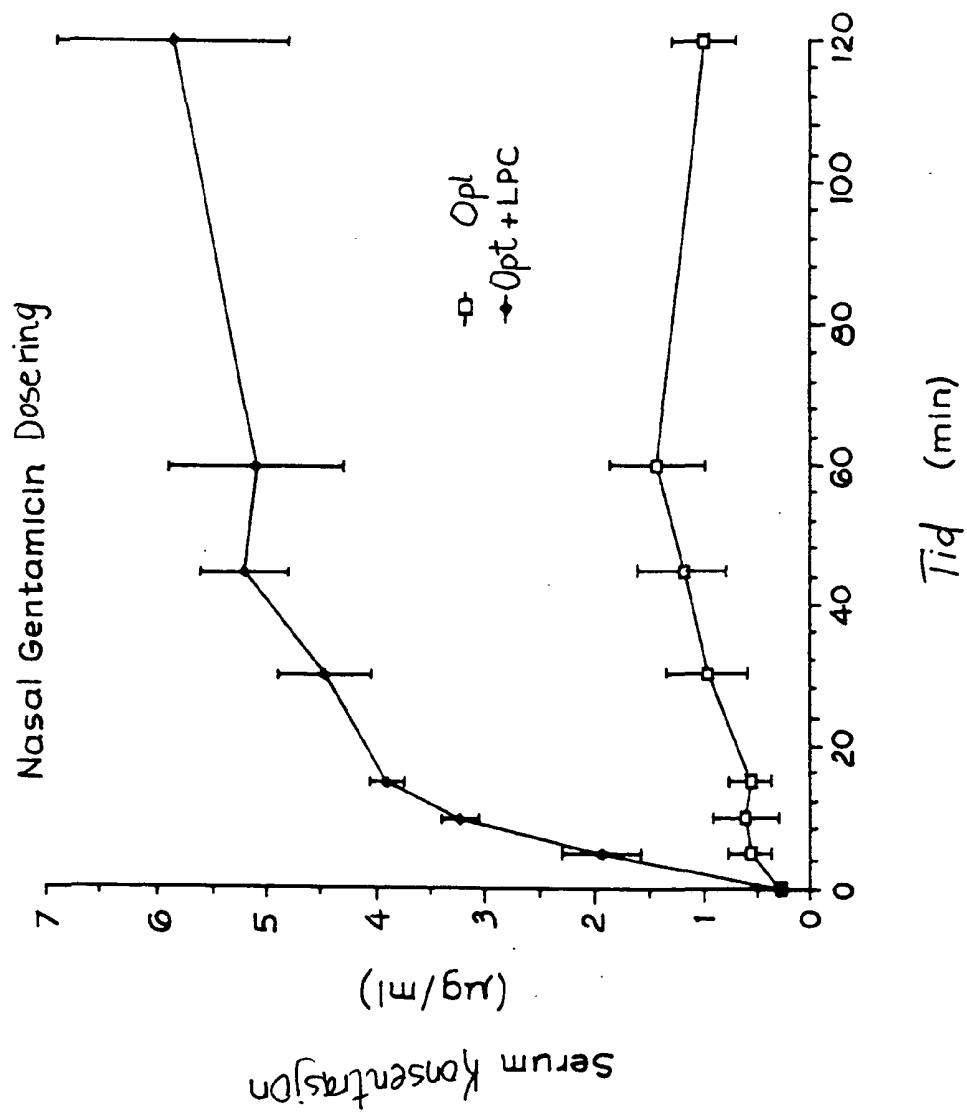
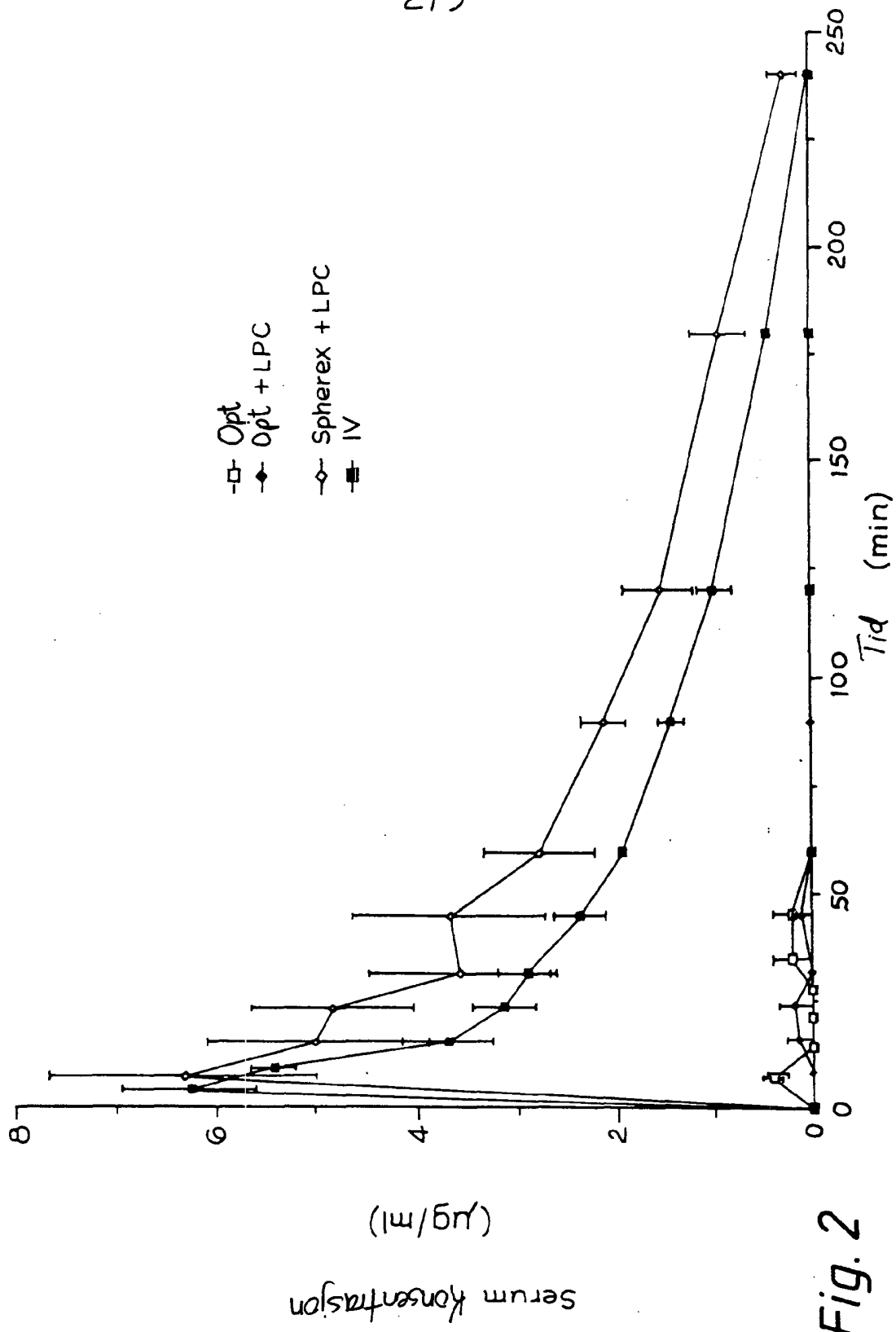


Fig. 1



3/9

Nasal Zn-Insulin in rats

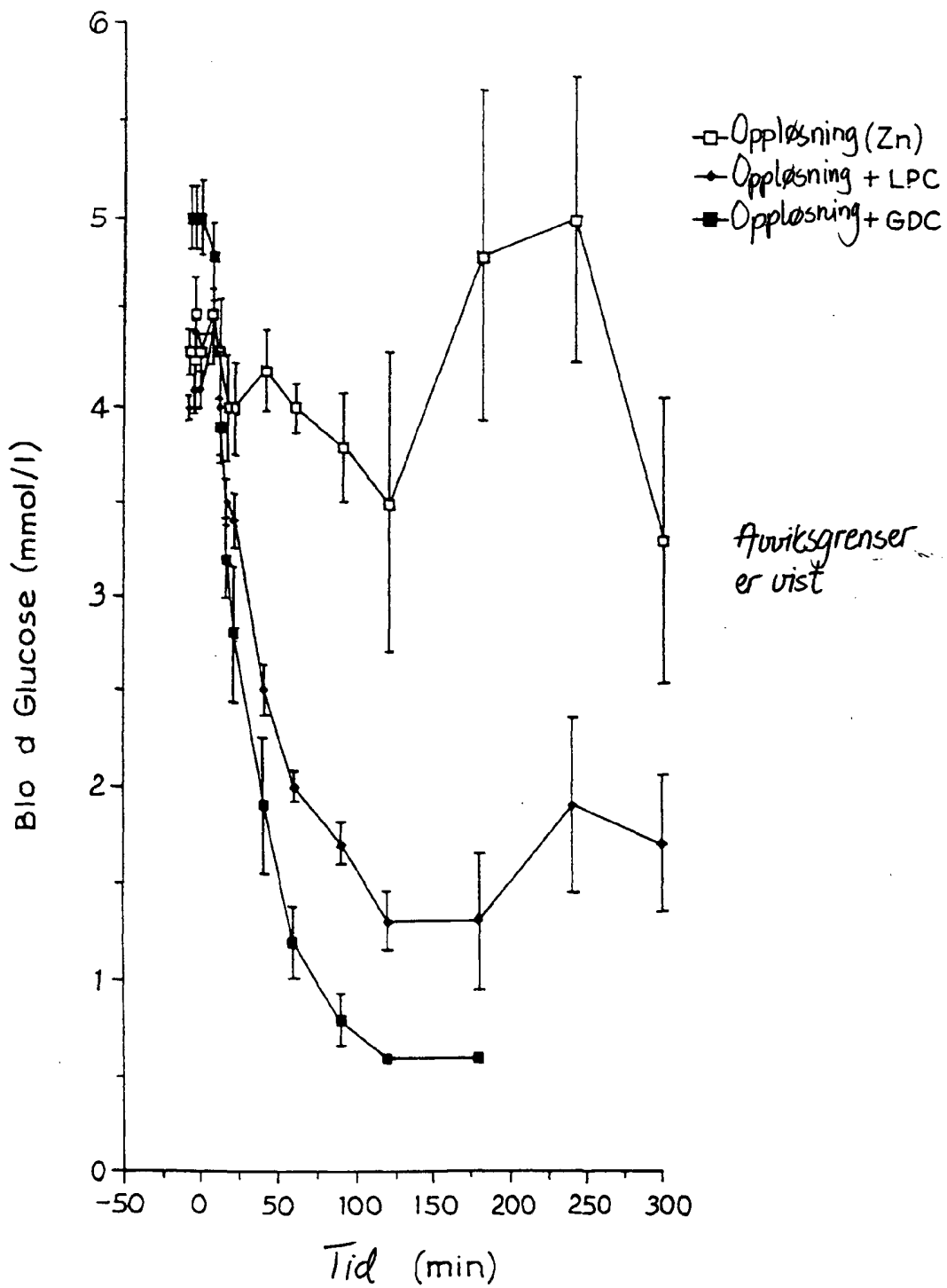


Fig. 3

4/9

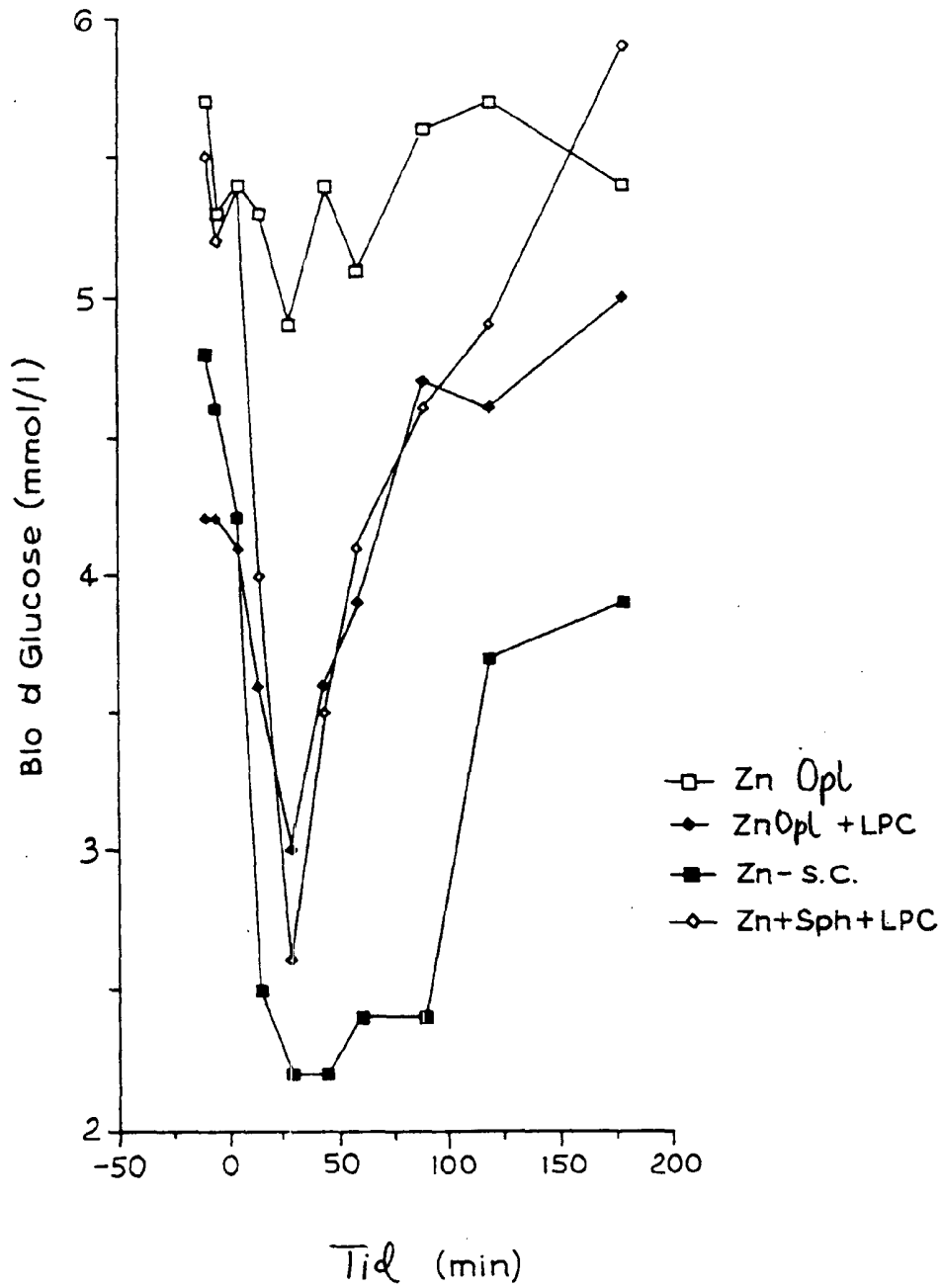


Fig. 4

178564

5/9

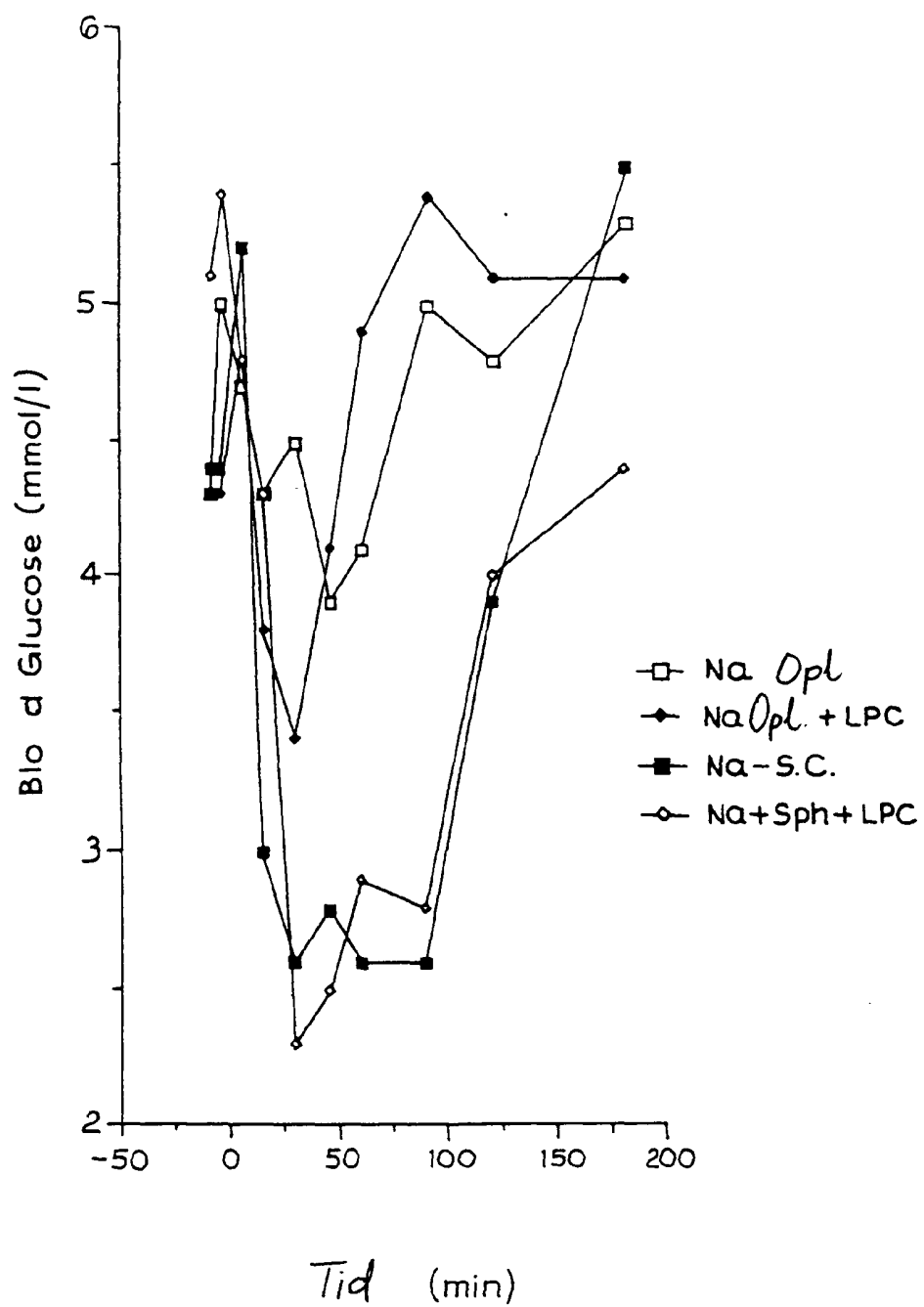


Fig. 5

6/9

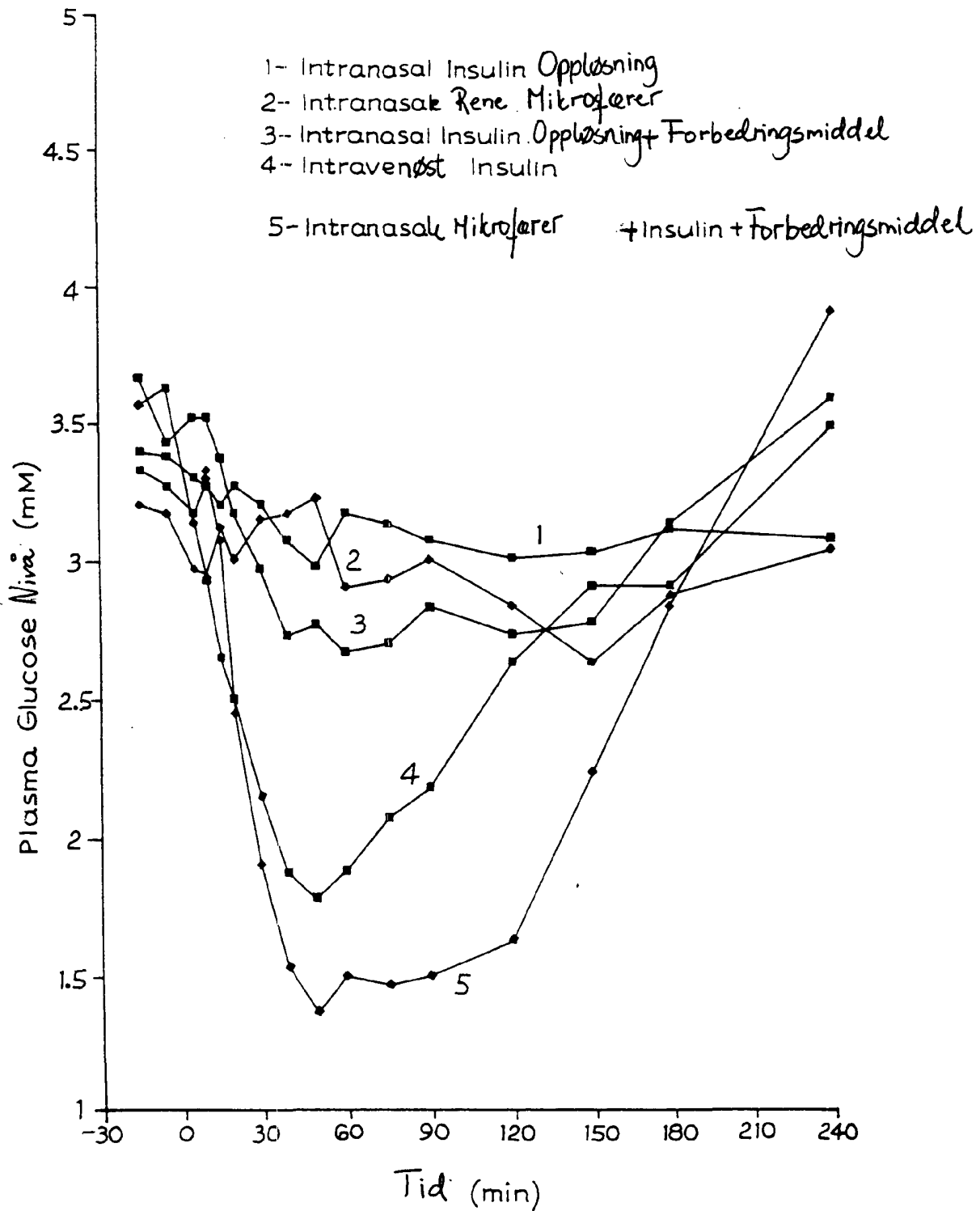


Fig. 6

7/9

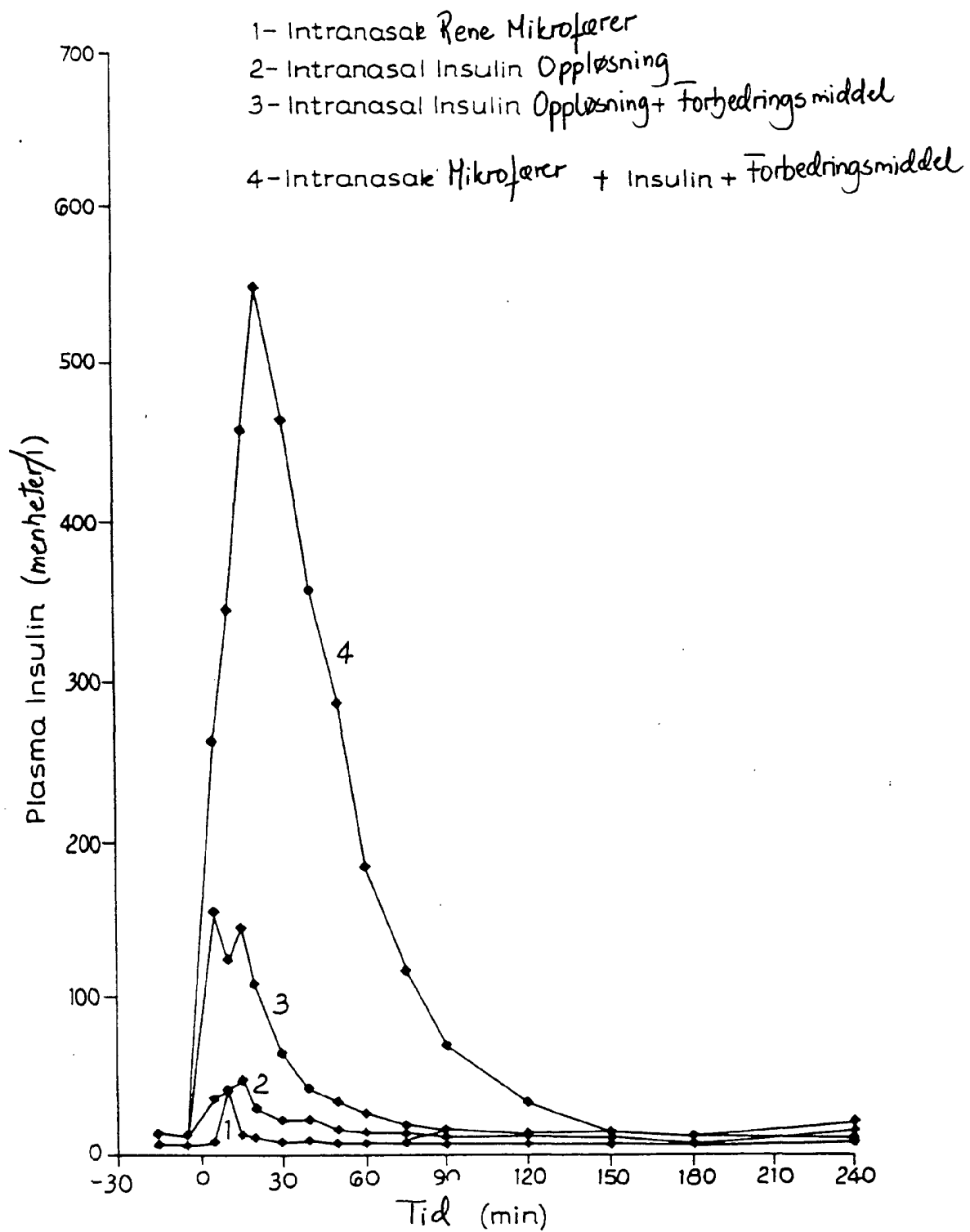


Fig. 7

8/9

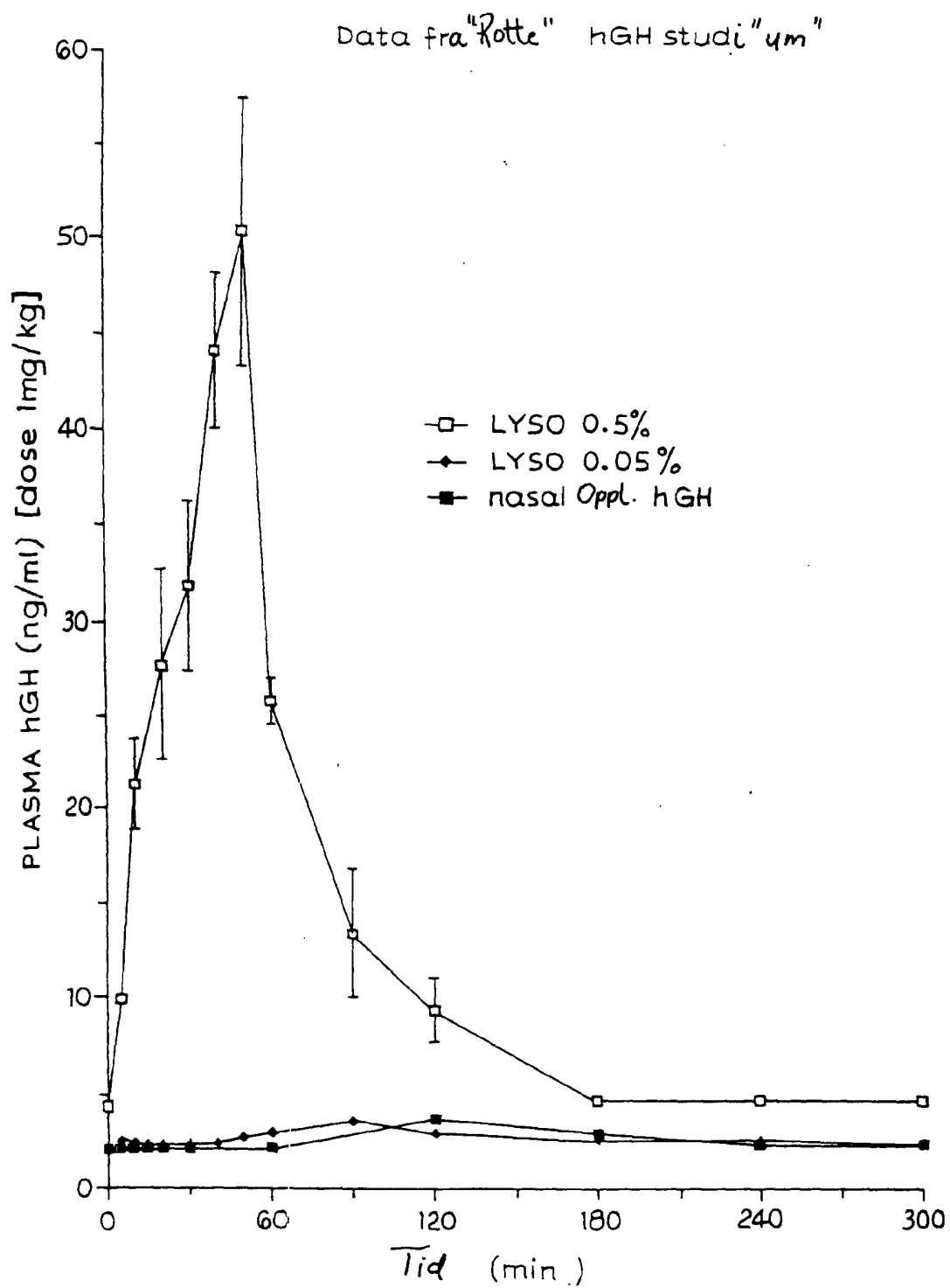


Fig. 8

178564

9/9

SAUER hGH

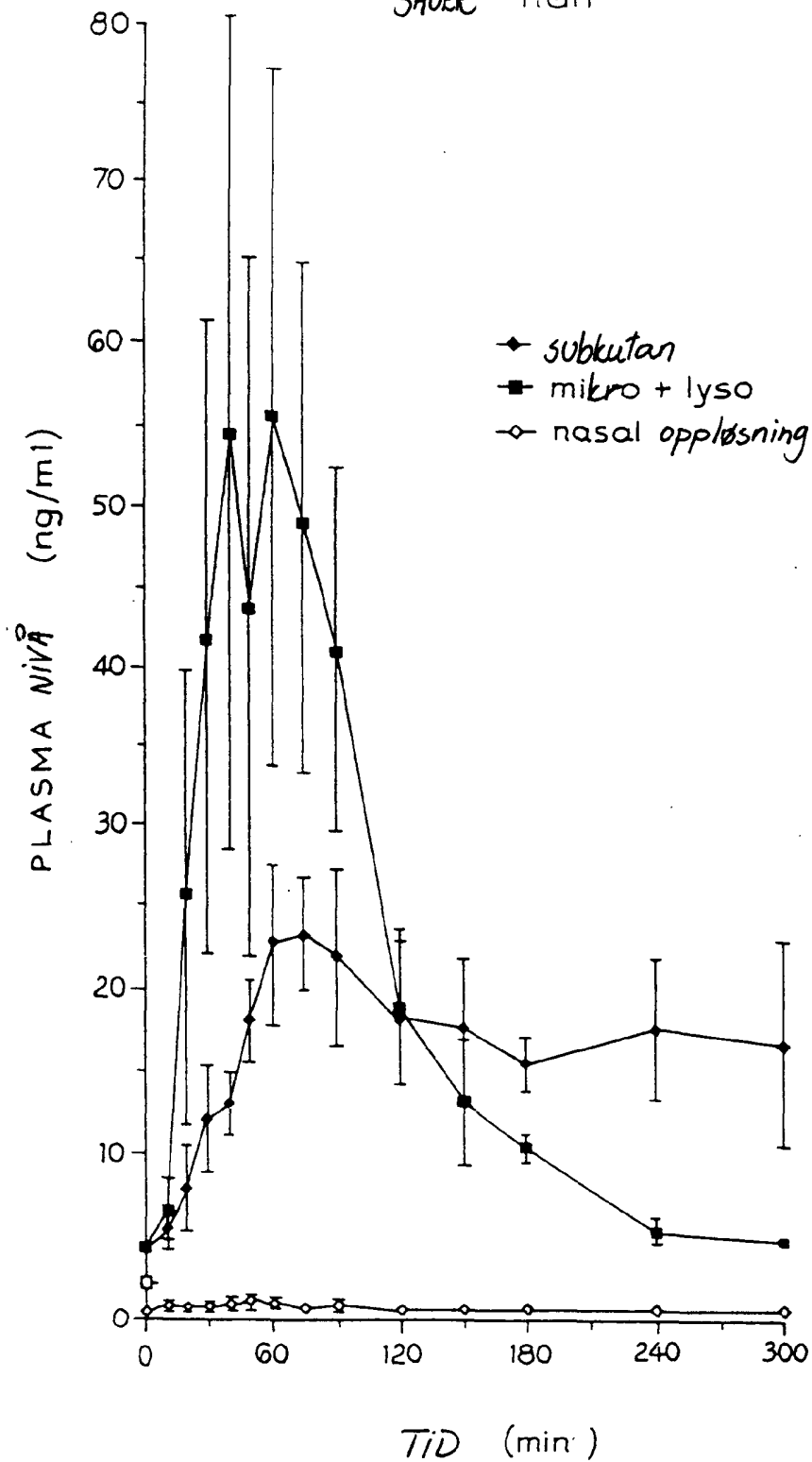


Fig. 9