



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **314285**

(13) B1

(51) Int Cl⁷

A 61 K 9/14

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19953461	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1994.03.04, PCT/SE94/00185
(22) Inng. dag	1995.09.04	(85) Videreføringsdag	1995.09.04
(24) Løpedag	1994.03.04	(30) Prioritet	1993.03.05, US, 27501
(41) Alm. tilg.	1995.11.06		
(45) Meddelt dato	2003.03.03		
(71) Patenthaver	Pharmacia AB, S-112 87 Stockholm, SE		
(72) Oppfinner	Kirsten Westesen, D-38154 Königslutter, DE Britta Siekmann, D-38106 Braunschweig, DE		
(74) Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, 0306 Oslo		

(54) Benevnelse **Fremgangsmåte ved emulgering av oppløselige eller dårlig oppløselige materialer samt suspensjon dannet ved fremgangsmåten, partikler og anvendelse**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

Det er beskrevet tilføringsformer og avleveringssystemer for medikamenter, vaksiner og andre biologisk aktive midler. Mer spesielt er det beskrevet fremstilling av suspensjoner av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) av i hovedsak anisometrisk form, hvor lipidmatrisen er i en stabil polymorf modifikasjon, og av suspensjoner av mikron- og submikronpartikler av bioaktivt middel (PBA), såvel som bruken av slike suspensjoner eller de frysetørkede materialer derav som avleveringssystemer i hovedsak for parenteral tilførsel av i hovedsak dårlig vannoppløselige bioaktive substanser, spesielt medikamenter, samt deres bruk i kosmetiske produkter, matvare- og agrikulturelle produkter. Emulgeringsprosessen innbefatter smelting av materiale (et lipid og for bioaktivt middel) og blanding med en vandig fase (oppvarmet til smeltetemperatur). Emulgeringen blir utført med høytrykkehomogenisering.

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av suspensjoner av partikler av bionedbrytbare lipider som er faste ved romtemperatur, for- trinnsvis triglyserider, som kan benyttes som bærematerialer for dårlig vannoppløselige medikamenter eller andre bioaktive midler, samt slike suspensjoner av partikler som består av biologisk aktive midler, så som medikamenter, insekticider, fungicider, pesticider, herbicider og gjødningsmidler, så vel som frysetørkede materialer derav. Begge systemer kan fremstilles ved en smelteemulgeringsprosess.

Egenskapene for de faste lipidpartikler (SLP) innbefatter bionedbrytbarhet, unngåelse av toksisk aktive residuer fra fremstillingsprosessen, økt fysiokjemisk stabilitet når det gjelder sammenheng og medikamentlekkasje, modifiserte overflatekarakteristika, kontrollert frigjøring av de inkorporerte substanser og modifisert biofordeling. Partiklene kan fremstilles ved en emulgeringsprosess av smeltet materiale som danner flytende dråper som danner krystallinske anisometriske partikler ved avkjøling. De anisometriske partikler er av mikrometer- og submikrometerstørrelse, i hovedsak i størrelsesområdet fra 50 til 500 nm. De beskrevne suspensjoner har flere fordeler i forhold til andre medikamentbæremiddelsystemer avledet fra en fast bionedbrytbar matrise som i hovedsak er til stede i en β -polymorf modifikasjon (f.eks. β' , β_1 , β_2) og ikke i en amorf eller α -krystallinsk tilstand.

Fremstillingen av mikron- og submikronpartikler omfattende dårlig vannoppløselige bioaktive midler (PBA) ved emulgering av den smeltede substans utgjør en ny fremgangsmåte for å redusere partikkelstørrelsen og/eller modifisere overflatekarakteristikaene av forpulvrede substanser som kan bli utført med billige teknikker kun ved bruk av fysiologisk akseptable additiver. Suspensjonene av partiklene er produkter som er lette å håndtere fra et sikkerhetsmessig synspunkt. Partiklene av bioaktive midler gir modifisert

biofordeling og biotilgjengelighet av de formulerte medikamenter eller andre bioaktive substanser, noe som impliserer en modifikasjon av utstrekningen og graden av oppløsning og absorpsjon, sirkulasjonstid, virkningssted og fordelings-
5 måte for medikamentet eller annen bioaktiv substans. En reduksjon i partikkelstørrelse under mikrometerområdet gir mulighet for direkte intravenøs tilførsel av partikler dannet fra dårlig vannoppløselige medikamenter uten behov for et bæremateriale.

10 Område for oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse ligger innenfor området tilføringsformer og avleveringssystemer for medikamenter, vaksiner og andre biologisk aktive midler, så som insekticider, fungicider, pesticider, herbicider og gjødningsmidler. Mer
15 spesielt angår oppfinnelsen fremstillingen av suspensjoner av kolloidale faste lipidpartikler (DLP) hvor den lipide matrise er i en stabil polymorf modifisering, samt av suspensjoner av mikron- og submikronpartikler av bioaktive midler (PBA), så vel som bruken av slike suspensjoner eller
20 de frysetørkede materialer derav som avleveringssystemer, i hovedsak for parenteral, men også for peroral, nasal, pulmonær, rektal, dermal og bukkal tilførsel av fortrinnsvis dårlig vannoppløselige bioaktive substanser, spesielt medikamenter, samt deres bruk i kosmetiske, matvare- og agrikulturelle produkter. Disse dispensjonssystemer gir kontrollert frigjøring av innbefattede eller konstituerende substanser så vel som modifisert biofordeling og biotilgjengelighet av innbefattede eller konstituerende medikamenter, noe som innebærer en modifikasjon av utstrekning og
25 grad av oppløsning og absorpsjon, sirkulasjonstid, virkningssted og avleveringsmåte for medikamentet.
30

Bakgrunn for oppfinnelsen

Parenteral, spesielt intravenøs tilførsel av vannoppløse-

lige eller dårlig oppløselige substanser, så som medikamenter eller andre biologiske materialer, utgjør ofte et problem for den som formulerer administrasjonformen. Da de minste blodkapillærer kun er et par μm , vil intravenøs tilførsel av større partikler føre til kapillærblokkering. Faste medikamentsubstanser blir imidlertid disintegret ved oppmaling og -riving, for derved å danne partikler fra et par mm ned til mikrometerstørrelsesområdet, som er for stort til å bli injisert direkte som en vandig suspensjon. som følge av dette er intravenøse administrasjonssystemer inneholdende suspenderte partikler av vannoppløselige medikamenter ikke kommersielt tilgjengelige på grunn av risikoen for emboli. En ytterligere minskning i partikkelstørrelse er ineffektiv, dyr og til og med umulig med konvensjonelle teknikker. I tillegg gir reduksjonen av faststoff til pulveret i submikronstørrelse store vanskeligheter ved håndtering av disse tørrprodukter som øket risiko for støv-eksplosjoner og kryssforurensningsproblemer i et fabrikkområde. Dessuten utgjør slike systemer en helserisiko for personer som er eksponert til mulig inhalering og absorpsjon av kraftig bioaktive materialer. Opptil nå er de eneste muligheter for å tilføre dårlig vannoppløselige substanser ved intravenøs rute å benytte ko-oppløsningsmidler eller å utvikle bærersystemer som inkorporerer slike substanser i bærermaterialer med hydrofile overflater.

Grunnkrav for et ideelt medikamentbæremiddelsystem innebærer bionedbrytbarhet, ikke-toksisitet og ikke-immunogenisitet. Videre bør bærematerialet være egnet for den tiltenkte administrasjonsrute, f.eks. med hensyn til partikkelstørrelse. Ofte er en kontrollert frigjøring av det inkorporerte bioaktive materiale ønsket, f.eks. når konstante serumnivåer bør opprettholdes over en lang tidsperiode eller når medikamentet oppviser kun en meget lav terapeutisk indeks.

Videre kan bæremiddelsystemet anvendes for å forlenge halv-

eringstiden for visse substanser som er ustabile grunnet rask enzymatisk eller hydrolytisk nedbrytning i biologisk miljø. På den annen side presenterer inkorporeringen av medikamentet i bærematerialet også en mulighet for å beskytte
5 vertsorganismen fra medikamentet i tilfeller med ikke-selektive toksiske substanser, så som antikreftmidler.

I mange tilfeller er medikamentbæremiddelsystemene utviklet med det mål for øyet å avlevere medikamenter til områdespesifikke mål ved å omgå opptak av det reticuloendoteliale
10 system (RES). Grunnen for en slik medikamentmålretning er en økning av medikamentets terapeutiske effektivitet ved en økning av medikamentkonsentrasjonen ved målområdet med en samtidig minskning ved ikke-målområdene, for derved å muliggjøre en reduksjon av den tilførte dose. Således kan
15 toksisiteten av medikamenter, f.eks. anti-kreftmidler, bli minsket, noe som fører til en minskning av bivirkninger.

Kravet om en korrekt områdespesifikk avlevering involverer en viss selektivitet av bæremiddelsystemet for målvevet så vel som tilgjengeligheten av det ønskede målområde. Målretning ved intravenøs rute for tilførsel er generelt forbundet med å unngå eller i det minste redusere bæremiddelopptak av RES, bortsett fra de tilfeller hvor en direkte målretting til celler av RES er ønsket. Fjerning av kolloidale partikler av RES har blitt beskrevet som avhengig av
20 partikkelstørrelse så vel som av partikkeloverflate-karakteristika, så som overflateladning og overflatehydrofobisitet. Generelt blir små partikler fjernet mindre raskt fra blodstrømmen enn store partikler, mens ladede partikler blir tatt opp raskere enn hydrofile, ikke-ladede partikler.
25 På grunn av disse fakta er tilnærminger til medikamentmålretting modifisering av overflatekarakteristika samt reduksjon av partikkelstørrelse.
30

Videre er en liten partikkelstørrelse også nødvendig for målretting av medikamenter til ekstravaskulære områder, si-

den ekstravasering kun er mulig via et reseptormediert opp-
tak ved fagocytose/pinocytose eller hvor den endoteliale
vegg er gjort gjennomtrengelig (fenestrert). Disse fene-
streringer kan finnes for eksempel i sinusoidene i lever,
5 milt og benmarg, og oppviser diametere opptil omkring 150
nm.

Fra et fremstillingssynspunkt bør det ideelle medikament-
bæremiddelsystem kunne fremstilles uten komplikasjoner ved
teknikker som er lette å håndtere på en reproduserbar måte
10 og eventuelt med lave produksjonsomkostninger. Formulerin-
gen bør oppvise tilstrekkelig stabilitet både under frem-
stilling og lagring.

I de senere år har flere kolloidale systemer fått spesiell
interesse for sin potensielle anvendelse som medikament-
15 bæremidler og blant disse er liposomer, lipider, emulsjoner
og nanopartikler. Imidlertid har alle de nevnte systemer et
visst antall ulemper som til nå har forhindret gjennombrudd
av alle slike systemer som et bredt kommersielt utnyttet
medikamentbæremiddel.

20 Medikamentbæremiddelsystemer i mikrometer-størrelsesområdet
blir representert av mikrosfærer omfattende nevnte polymere
matrise og mikrokapsler hvor en væske eller en fast fase er
omgitt og innkapslet av en polymerfilm. Nanopartikler be-
står, slik som mikrosfærer, av en fast polymer matrise.
25 Deres gjennomsnittlige partikkelstørrelse ligger imidlertid
i nanometerområdet. Både mikro- og nanopartikler blir gene-
relt fremstilt enten ved emulsjonspolymerisering eller ved
oppløsningsmiddel-inndampningsteknikker. På grunn av disse
produksjonsmetoder har mikro- og nanopartikler risikoen med
30 gjenværende forurensninger fra produksjonsprosessen, så som
organiske oppløsningsmidler, eksempelvis klorinerte hydro-
karboner så vel som toksiske monomerer, overflateaktive
midler og fornetningsmidler, som kan føre til toksikolog-
iske problemer. Videre brytes enkelte polymere materialer,

så som polymelkesyre og polymelke-glykolsyre meget langsomt ned in vivo, slik at flere tilførsler kunne føre til polymerakkumulering forbundet med uheldige bivirkninger. Andre polymerer, så som polyalkylcyanoakrylater, frigjør toksisk formaldehyd ved nedbrytning i legemet.

Medikamentbæremiddelsystemer for parenteral tilførsel basert på lipider er liposomer og submikron-lipidemulsjoner. Selv om slike systemer kun består av fysiologiske komponenter for således å redusere toksikologiske problemer, finnes det et antall ulemper forbundet med disse lipide bærematerialer.

Liposomer er sfæriske, kolloide strukturer hvor en innvendig vandig fase er omgitt av ett eller flere fosfolipidbilag. Den potensielle bruk av liposomer som medikamentavleveringssystemer har bl.a. blitt beskrevet i US patent 3.993.754 (utstedt 23. november 1976 til Rahmann og Cerny), 4.235.871 utstedt 25. november 1980 til Papahadjopoulos og Szoka) og 4.356.167 (utstedt 26. oktober 1982 til L. Kelly). Hovedulempene ved konvensjonelle liposomer er deres ustabilitet ved lagring, deres lave reproduserbarhet ved fremstilling og den lave innfangningseffektivitet samt lekkasje av medikamenter.

I henhold til IUPAC-definisjonen blir en emulsjon væsker eller flytende krystaller dispergert i en væske. Lipidemulsjoner for partenteral tilførsel består bl.a. av flytende oljedråper, i hovedsak i submikron-størrelsesområdet, dispergert i en vandig fase og stabilisert med en interfaciell film av emulgatorer. Typiske formuleringer er beskrevet i japansk patent 55.476/79 utstedt 7. mai 1979 til Okamota, Tsuda og Yokoyama. Fremstillingen av en medkamentinneholdende lipidemulsjon er beskrevet i WO 91/02517, utstedt 7. mars 1991 til Davis og Washington. Tendensen til disse lipidemulsjoner å inkorporere medikamenter er relativt høy på grunn av mobiliteten av medikamentmolekyler inne i den in-

terne oljefase, siden diffunderende molekyler kan trenge inn i emulgatorfilmen og forårsake ustabiliteter, noe som fører til koagulering. Videre er frigjøring av inkorporerte medikamenter fra lipidemusjoner relativt rask, slik at mulighetene for en vedvarende medikamentfrigjøring er begrensete.

Fountain et al. (US patent 4.610.868, utstedt 9. september 1986) utviklet lipidmatrise-bærematerialer som er beskrevet som globulære strukturer av en hydrofob forbindelse samt en amfifatisk forbindelse med diametere fra omkring 500 nm til omkring 100.000 nm. Den hydrofobe forbindelse kan være flytende eller fast. Fremstillingsteknikkene anvender imidlertid organiske oppløsningsmidler og er således forbundet med problemet angående fullstendig fjerning av oppløsningsmiddel.

Såkalte liposfærer, beskrevet av Domb et al. (US patentsøknad 435.546 innlevert 13. november 1989, internasjonal søknad PCT/US90/06519 innlevert 8. november 1990) er beskrevet som suspensjoner av faste vannoppløselige vannmikrosfærer laget av en fast hydrofob kjerne omgitt av et fosfolipidlag. Liposfærer er hevdet å sørge for vedvarende frigjøring av innesluttede substanser kontrollert av fosfolipidlaget. De kan fremstilles ved en smelte- eller ved en oppløsningsmiddelteknikk, hvor sistnevnte lager toksikologiske problemer dersom oppløsningsmidlet ikke blir fullstendig fjernet.

En blanding for langsom frigjøring av fett eller voks og biologisk aktivt protein, peptid eller polypeptid egnet for parenteral tilførsel til dyr er beskrevet i US patentsøknad 895.608, innlevert 11. august 1986 til Staber, Fishbein og Cady (EP-A-0 257 368). Systemene blir fremstilt ved spraytørring og består av sfæriske partikler i mikrometer-størrelsesområdet opptil 1.000 μm , slik at intravenøs tilførsel ikke er mulig.

Problemer med formuleringen av vannoppløselige eller dårlig vannoppløselige substanser er ikke begrenset til parenteral tilførselsrute. Således er peroral biotilgjengelighet av medikamenter relatert til deres oppløselighet i mage-
5 tarm-kanalen (GIT), og det blir generelt funnet at dårlig vannoppløselige medikamenter oppviser en lav biotilgjengelighet. Videre blir oppløsningen av medikamenter i mage-
tarm-kanalen påvirket av deres fuktbarhet. Substanser med apolare overflater blir nesten ikke fuktet i medier, slik
10 at deres oppløsningshastighet er meget lav.

I et forsøk på å forbedre tarmabsorpsjonen av lipofile medikamenter fremstilte Eldem et al. (Pharm. Res. 8, 1991, 47-54) lipide mikropelleter ved spraytørkings- og spray-
koagulerings-prosesser. Mikropelletene er beskrevet som
15 sfæriske partikler med glatte overflater. Lipidene er imidlertid til stede i ustabile polymorfe former, og polymorf faseoverføring opptrer under lagring, slik at produktgenskapene forandrer seg stadig (T. Eldem et al., Pharm. Res. 8, 1991, 178-184). Således kan konstante produktkvaliteter
20 ikke garanteres.

Lipide nanopelleter for peroral tilførsel av dårlig biotilgjengelige medikamenter er beskrevet i EP 0 167 825 av 8. august 1990 til P. Speiser. Nanopelletene representerer
medikamentladede fettpartikler som er faste ved romtempera-
25 tur og små nok til å bli persorbert. Persorbering er transporten av intakte partikler gjennom tarmmucosa til lymfe- og blodrommet. De lipide nanopelleter blir fremstilt ved å emulgere smeltede lipider i en vandig fase med høyhastighetsomrøring. Etter avkjøling til romtemperatur blir pelletene dispergert ved ultralydbehandling.
30

Mål for oppfinnelsen

Ved å betrakte begrensningene av konvensjonelle medikamentbæremidler, så som liposomer, lipide emulsjoner, nanopar-

tikler og mikrosfærer som skissert ovenfor, er det et innlysende behov for et bæremiddelsystem for kontrollert avgivelse av dårlig vannoppløselige bioaktive substanser for å omgå ulempene ved tradisjonelle systemer med hensyn til fremstilling, stabilitet, toksisitet og modifikasjon av biofordeling.

Foreliggende oppfinnelse innfører en ny type bæremiddelsystem som er særpreget ved ikke-sfærisk formede partikler sammensatt av krystallinske lipider, fortrinnsvis triglyserider, og fysiologisk akseptable additiver, så vel som en fremgangsmåte for fremstilling derav. Disse bærere gir en kontrollert avlevering av dårlig vannoppløselige substanser så som medikamenter eller andre biologiske materialer i hovedsak ved parenteral, men også ved peroral, nasal, pulmonal, rektal, dermal og bukkal tilførselsrute, og vil nedenfor bli referert til som faste lipidpartikler (SLP).

SLP er særpregede som lipide partikler av en fast fysisk tilstand i mikrometer- og i hovedsak i nanometerstørrelsesområdet. Partiklenes form er i hovedsak anisometrisk, noe som er en følge av de matrisedannende lipider som er til stede i en β -polymorf modifikasjon (f.eks. β' , β_1 , β_2), og ikke i en amorf eller α -krystallinsk tilstand. Egenskapene for SLPene innbefatter: (1) bionedbrytbarhet og ikke-toksisitet, (2) muligheten til å inkorporere dårlig vannoppløselige substanser; (3) forbedret kjemisk og fysisk stabilitet; (4) mulighet til å fremstille en tørrlagringsformulering; (5) kontroll av frigjøringskarakteristika hos inkorporerte substanser; (6) modifiserte overflatekarakteristika. Som et resultat av disse egenskaper overvinnes mange av problemene som påtreffes med konvensjonelle medikamentbæresystemer.

Foreliggende oppfinnelse er antatt å fremskaffe de følgende fordeler som er avledet fra særtrekkene av de SLP som er beskrevet ovenfor:

- (1) SLP kan fremstilles fra bionedbrytbare, farmakologisk akseptable forbindelser alene og er følgelig ikke-toksiske. I tillegg unngår fremstillingen av SLP anvendelse av organiske oppløsningsmidler eller alle andre potensielt toksiske additiver for således å unngå forurensning av produktet med gjenværende urenheter.
- (2) SLP har en øket kjemisk stabilitet sammenlignet med konvensjonelle lipidemulsjoner basert på flytende triglyseridoljer på grunn av den lavere grad av u-mettede fettsyrer av faste triglyserider. Videre oppviser SLP en bedre fysisk stabilitet på grunn av den faste natur av lipidmatrisen, som er forventet å være mer motstandsdyktig mot koagulering enn flytende emulsjonsdråper. Videre er lipidmatrisen til stede i en stabil β -polymorf modifikasjon (f.eks. β' , β_1 , β_2). Således vil produktegenskapene ikke endre seg i vesentlig grad under langtidslagring på grunn av polymorfe transformasjoner.
- (3) Suspensjoner av SLP kan bli lyofilisert ved frysetørring for å danne et vannfritt lagringssystem som oppviser god langtidsstabilitet. Det frysetørkede pulver kan bli redispergert i vann, buffer eller oppløsninger av aminosyrer, karbohydrater eller andre infusjonsoppløsninger direkte før bruk, eller de kan bli prosessert til andre farmasøytiske formuleringer.
- (4) På grunn av sin lipofile natur er SLP egnet for solubilisering av lipofile og dårlig vannoppløselige substanser ved innfangning i lipidmatrisen. Sammenlignet med lipidemulsjoner er LSP antatt å være mindre følsom overfor inkorporering av medikamenter eller andre bioaktive materialer fordi de er av fast natur. Medikamenter eller andre bioaktive materialer som diffunderer inn i emulgatorfilmen eller rekrystalliserer nær overflaten, innvirker på den stabiliserende film av

emulsjonsdråper og øker risikoen for filmgjennombrudd fulgt av koagulering. I motsetning til dette er filmelastisitet og filmviskositet av mindre viktighet i tilfeller med faste suspensjonspartikler, siden de ikke kan koagulere på grunn av den stive natur av lipidet.

- 5
- (5) Medikamentfrigjøring fra lipid bæremateriale kan kontrolleres, f.eks. ved sammensetningen av lipidmatrisen ved valg av stabiliseringsmidler så vel som ved størrelsen av SLP. Medikamentlekkasje blir forhindret av bærematerialets faste tilstand på grunn av den begrensede medikamentdiffusjon.
- 10
- (6) Medikamenter eller bioaktive substanser som oppviser en kort halveringstid grunnet enzymatisk eller hydrolytisk nedbrytning, kan bli beskyttet fra rask nedbrytning ved inkorporering i det lipide bæremateriale, siden den hydrofobe matrise forhindrer tilgang av vann til det inkorporerte medikament ved lagring så vel som i kroppsvæsker.
- 15
- (7) Inkorporeringen i SLP av medikamenter eller andre bioaktive substanser med lav biotilgjengelighet på grunn av dårlig oppløselighet i mage-tarm-kanalen (GIT) kan øke biotilgjengeligheten av slike substanser, fordi disse er oppløst i den bionedbrytbare lipide matrise og er således til stede i oppløst tilstand.
- 20
- 25
- (8) Grunnet den anisometriske form av SLP er det spesifikke overflateområde større enn det hos sfæriske partikler med samme volum. Substanser med en lav peroral biotilgjengelighet kan absorberes raskere og i høyere grad i GIT når de er inkorporert i anisometriske LSP enn i sfæriske lipidpartiker med samme volum, grunnet det større overflateområde av SLP, siden det
- 30

potensielle virkningsområde for lipolytiske enzymer er større.

- 5 (9) Overflatekarakteristikaene for SLP kan bli modifisert ved å variere lipidsammensetningen, bruken av forskjellige stabilisatorer, utbytting av surfaktanter og/eller adsorpsjon av polymere forbindelser. Modifisering av overflatekarakteristika fremskaffer muligheten til å modifisere in vivo-fordelingen av bærematerialet og den inkorporerte substans. I tilfelle av intravenøs tilførsel implikerer dette et modifisert opp-
10 tak av RES med potensiale for medikamentmålretting.
- (10) Grunnet submikron partikkelstørrelsen av SLP finnes det ingen risiko for emboli ved parenteral tilførsel. Siden SLP kan fremstilles ned til en partikkelstørrelse på omkring 50 nm, har de muligheten for ekstravasering via fenestreringer av endotelialveggen. Ved
15 dette kan medikamenter bli målrettet til ekstravaskulære områder så som f.eks. benmargen.

20 Videre innfører foreliggende oppfinnelse en ny type avleveringssystem for parenteral, peroral, nasal, pulmonar, rektal, dermal og bukkal tilførsel av medikamenter eller andre bioaktive substanser så vel som fremgangsmåten for fremstilling derav. Disse formuleringer er suspensjoner av partikler dannet av bioaktive substanser med modifiserte
25 overflatekarakteristika og/eller en redusert partikkelstørrelse sammenlignet med den forpulvrede substans og vil nedenfor bli referert til som partikler av bioaktive midler (PBA). Fremstilling av PBA kan unngå anvendelsen av alle toksikologisk aktive additiver, slik som organiske oppløsningsmidler eller toksiske monomerer, og kan bli utført ved
30 teknikker som er lette å håndtere.

PBA kan bli brukt i de følgende anvendelsesområder:

- a) som et parenteral avleveringssystem med modifisert biofordeling for dårlig vannoppløselige bioaktive substanser uten behov for et bæremateriale;
 - 5 b) som et avleveringssystem i henhold til a) for peroral, nasal, pulmonar, rektal, dermal og bukkal administrasjon;
 - c) som en formulering for peroral tilførsel av medikamenter med dårlig biotilgjengelighet grunnet lav oppløsningsgrad i mage/tarmkanalen,
 - 10 d) som et avleveringssystem for bruk i agrikulturelle anvendelser;
 - e) det frysetørkede materiale av formuleringer a) til d) som et rekonstituerbart pulver med øket stabilitet ved lagring.
- 15 Grunnet de spesielle særtrekk ved foreliggende oppfinnelse er PBA antatt å fremskaffe de følgende fordeler i forhold til konvensjonelle farmasøytiske avleveringssystemer:
- 20 1) Formuleringen av dårlig vannoppløselige medikamenter eller andre bioaktive substanser som mikron- eller submikronpartikler unngår behovet for et bæremiddelsystem for deres parenterale anvendelse, for derved å omgå ulempene ved konvensjonelle medikamentbæremidler, slik liposomer, lipide emulsjoner, nanopartikler og mikrosfærer.
 - 25 2) PBA kan fremstilles ved lett håndterbare teknikker på en reproducerbar måte. Det eksisterer ingen forutsebare problemer for oppskalering av fremstillingsprosessen.
 - 3) Siden partiklene består av rene bioaktive forbindelser

med kun små mengder stabilisatorer er den medikament-ladbare kapasitet av medikamentpartiklene høy.

- 4) Frigjøringen av medikamenter eller andre bioaktive forbindelser fra formuleringen kan bli kontrollert ved valg av amfifatiske forbindelser anvendt til å stabilisere partiklene.
- 5) Fremstillingen av PBA kan unngå bruken av toksikologisk aktive additiver.
- 6) Et vannfritt lagringssystem med øket stabilitet kan bli dannet f.eks. ved frysetørking av PBA dispersjonene.
- 7) Overflatekarakteristikaene for PBA kan modifiseres ved valg av amfifatiske forbindelser benyttet som stabilisatorer så vel som ved festing av såkalte målsøkende innretninger for målretting av medikamentene, f.eks. monoklonale antistoff eller karbohydratenheter. Overflatemodifikasjonene gir opphav til en modifisert biotilgjengelighet og biofordeling med hensyn til utstrekning og grad av absorpsjon, sirkulasjonstid, virkningsområde og fordelingsmåte for den bioaktive substans. Modifikasjonen av overflatekarakteristika gir også mulighet for å unngå eller i det minste redusere opptaket av intravenøst tilførte partikler av celler i RES.
- 8) Siden partiklene kan fremstilles med en størrelse under 100 nm til 200 nm har de mulighet for ekstravasering ved fenestreringer av den endoteliale veggen. Derved kan medikamenter bli målrettet til ekstravasculære områder, slik som f.eks. benmargen.
- 9) En reduksjon i partikkelstørrelse til nanometerstørrelsesområdet som generelt ikke er mulig ved maling

- eller kverning, fører til en enorm økning av det spesifikke overflateareal hos partiklene. Siden den perorale tilgjengelighet av medikamenter eller andre bioaktive substanser er relatert til det spesifikke overflatearealet via oppløsningsgraden av substansen i mage/tarmkanalen, gir partiklene med submikronstørrelse opphav til en øket biotilgjengelighet av medikamenter som er dårlig oppløselige i GIT.
- 5
- 10) Hydrofobe substanser kan formuleres som PBA med hydrofile overflater. Hydrofile overflater gir en god fuktbarhet av partiklene. f.eks. i GIT, noe som letter oppløsning av forbindelsen. Således kan biotilgjengeligheten økes.
- 10
- 11) Fremgangsmåte ved fremstilling av PBA involverer kun billige og lett håndterbare teknikker og danner et produkt som er sikkert å håndtere. Siden partiklene er til stede i en flytende dispersjon eksisterer ingen risiko for støvekspløsjoner, kryssforurensning eller inhalering av bioaktive substanser, slik som ofte blir påtruffet ved produksjonen av ekstremt fine pulvere.
- 15
- 20

BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Foreliggende oppfinnelse angår suspensjoner av mikron- og submikronpartikler av bionedbrytbare lipider som er faste ved romtemperatur (faste lipidpartikler, SLP), til suspensjoner av partikler av smeltbare bioaktive substanser (PBA) til frysetørkede materialer derav, samt til fremgangsmåter ved fremstilling derav.

25

Faste lipidpartikler (SLP) er av i hovedsak anisometrisk form som er en følge av at lipidmatrisen er til stede i en β -polymorf modifikasjon (f.eks. β' , β_1 , β_2) eller i en polymorf tilstand som er analog med den til β -krystaller av triglycider og ikke i en amorf eller α -krystallinsk-lig-

30

nende tilstand. SLP kan anvendes som bæremiddelsystemer i hovedsak for parenteral, men også for peroral, nasal, pulmonar, rektal, dermal og bukkal administrasjon av dårlig vannoppløselige substanser, slik som medikamenter eller andre biologisk aktive materialer. Anvendelsen av SLP er imidlertid ikke begrenset til tilførselen av farmasøytiske materialer til mennesker eller dyr. SLP kan også bli brukt i kosmetiske, matvare- og agrikulturelle produkter. SLP er nye lipidstrukturer med egenskaper som overvinne mange av problemene assosiert med tidligere beskrevne bæremiddelsystemer.

De faste lipidpartiklers matrise består av biokompatible hydrofobe materialer som er faste ved romtemperatur og har smeltepunkter i området fra omkring 30 til 120°C. De foretrukne matrisebestanddeler er faste bestanddeler (fett), slik som mono-, di- og triglycerider av langkjedede fettsyrer, hydrogenerte vegetabiliske oljer, fettsyrer og deres estere, fettalkoholer og deres estere og etere; naturlige eller syntetiske vokstyper, slik bivoks og karnauba-voks, voksalkoholer og deres estere, steroler, slik som kolesterol og dets estere, harde parafiner, så vel som blandinger derav. Bærematerialet må være kompatibelt med midler som skal innbefattes.

Lipider er kjent for å oppvise en uttalt polymorfi. Dette kan bli definert som egenskaper å oppvise forskjellige enhetscellestrukturer i krystall som stammer fra en mengde molekylære konformasjoner og molekylære pakkemåter. Avhengig av tilstandene kan f.eks. glyserider, krystallisere i tre forskjellige polymorfe former betegnet alfa (α), beta-merket (β') og beta (β) i henhold til klassifiseringen til Larsson (K. Larsson, 1966, Acta Chem. Scand, 20, 2255-2260). Disse polymorfe modifikasjoner karakterisert ved en spesiell karbonkjedepakning kan være signifikant forskjellige i sine egenskaper, slik som oppløselighet, smeltepunkt og termisk stabilitet. Transformasjoner finner sted fra a

til β' til β hvor overgangen er monotropisk. β -formen er den termodynamisk mest stabile polymorf, mens α er den minst stabile og vil transformere mer eller mindre raskt til de mer stabile polymorfer β' og β , avhengig av de termiske betingelser. Denne transformasjon blir fulgt av en endring i fysiokjemiske egenskaper.

I de beskrevne suspensjoner av SLP er lipidmatrisen i hovedsak til stede i en stabil polymorf modifikasjon. Selv om de dispergerte, smelte-metastabile polymorfer, slik som α -formen ved avkjøling kan opptre intermediært, blir en stabil polymorf dannet innen flere timer eller dager etter fremstilling av dispersjonene.

Suspensjonene av SLP kan bli stabilisert av amfifatiske forbindelser, slik som ioniske og ikke-ioniske overflateaktive midler. Egnede stabilisatorer innbefatter, men er ikke begrenset til, de følgende eksempler: naturlig forekommende så vel som syntetiske fosfolipider, deres hydrogenerte derivater og blandinger derav, sfingolipider og glykosfingolipider; fysiologiske gallesalter, slik som natriumcholat, natriumdehydrocholat, natriumdeoksychofat, natriumglykocholat og natriumtaurocholat; mettede og umettede fettsyrer eller fettalkoholer; etoksylerte fettsyrer eller fettalkoholer og deres estere og etere; alkylaryl-polyeteralkoholer så som tyloksapol; estere og etere av sukker eller sukkeralkoholer med fettsyrer eller fettalkoholer; acetylerede eller etoksylerte mono- og diglycerider; syntetiske bionedbrytbare polymerer slik som blokk-kopolymerer av polyoksyetylen og polyoksypropylenoksyd; etoksylerte sorbitanestere eller sorbitanetere; aminosyrer, polypeptider og proteiner, slik som gelatin og albumin; eller en kombinasjon av to eller flere av de ovenfor nevnte.

Den vandige fase hvor SLP er dispergert kan inneholde vannoppløselige eller dispergerbare stabilisatorer; isotonisitetsmidler, slik som glycerol eller xylitol; kryobe-

skyttende midler som slik sukrose, glukose, trehalose, etc.; elektrolytter, puffere; antiflokkulanter, slik som natriumcitrat, natriumpyrofosfat eller natriumdodecylsulfat; konserveringsmidler.

- 5 Avhengig av særtrekkene hos de anvendte stabilisatorer kan sameksistens av andre kolloidale strukturer slik som miceller og vesikler i suspensjoner av SLP ikke bli utelukket.

Substanser som er spesielt egnet for innfangning i SLP er medikamenter eller andre bioaktive forbindelser som er
10 dårlig vannoppløselige, viser en lav biotilgjengelighet, blir dårlig absorbert fra tarmen og/eller vil raskt bli nedbrutt i biologisk miljø av kjemiske eller enzymatiske prosesser, så vel som lavspesifikke substanser som er meget toksiske ved ikke-målområder. I tilfelle av at det er
15 ønskelig å innbefatte en relativt vannoppløselig forbindelse i SLP er det nødvendig å minske vannoppløseligheten av denne forbindelse, noe som kan bli oppnådd f.eks. ved å bruke et vannoppløselig derivat av forbindelsen, slik som en syre eller base, et kompleks, eller en lipofil prekursor.
20

Medikamenter eller bioaktive midler som er spesielt egnet for inkorporering i SLP er antibiotika, slik som fosfomycin, fosmidomycin og rifapentin; antihypertensive midler slik som minoxidil, dihydroergotoksin og endralazin; anti-
25 hypotensive midler slik som dihydroergotamin, systemiske antimykotiske midler slik som ketoconazol og griseofulvin; antiflogistiske midler, slik som indomethacin, diklofenac, ibuprofen, ketoprofen og piroprofen; antivirale midler slik som aciclovir, vidarabin og immunoglobuliner; ACE inhitorer, slik som kaptopril og enalapril; betablokkere slik som
30 propranolol, atenolol, metoprolol, pindolol, oksprenolol og labetalol. Bronchodilatorer, slik som ipratropiumbromid og sobrerol; kalsiumantagonister slik som diltiazem, flunarizin, verapamil, nifedipin, nimodipin og nitrendipin; hjer-

teglykosider slik som digotoksin, digoksin, metyldigoksin og acetydigoksin; cephalosporiner slik som ceftizoksim, cefaleksin, cefalotin og cefotaksim; cytostatika slik som klormetin, cyklofosfamid, klorambucil, cytarabin, vinkristin, mitomycin C, doksorubicin, bleomycin, cisplatin, taksol, penklomedin og estramustin; hypnotika slik som flurazepam, nitrazepam og lorazepam; psykotropiske medikamenter slik som oksazepam, diazepam og bromazepam, steroide hormoner, slik som cortison, hydrocortison, prednison, prednisolon, deksametason, progesteron, pregnanolon, testosteron og testosteronundecanoat; vasodilatorer, slik som molsidomin, hydralazin og dihydralazin; cerebrale vasodilatorer, slik som dihydroergotoksin, ciklonikat og vincamin; lipofile vitaminer, slik som vitamin A, D, E, K og deres derivater.

De bioaktive substanser kan bli plassert i kjernen av SLP hvor de blir oppløst, solubilisert eller dispergert i matrisen, og/eller i stabilisatorlaget(ene) som omgir partikkelmatrisen og/eller kan bli absorbert til overflaten av SLP. De bioaktive substanser kan være oppløste eller krystallinske eller amorfe eller en blanding av disse krystallografiske tilstander.

SLP kan bli fremstilt ved en emulgeringsprosess som oppviser visse likheter med fremstillingen av lipid(olje)-i-vann emulsjoner, men er i hovedsak karakterisert ved sine grunnleggende forskjeller som vil bli skissert nedenfor. Fremgangsmåten er beskrevet som følger:

- a. det faste materiale eller en blanding av faste materialer smeltes,
- b. et dispersjonsmedium oppvarmes til omtrent samme temperatur som det smeltede faste materiale eller blandingen av faste materialer,

- c. en eller flere høyt mobile vannoppløselige eller dispergerbare stabilisator(er) som danner/ikke danner en separat fase i dispersjonsmediet, tilsettes dispersjonsmediet på en slik måte at mengden av høyt mobile stabilisatorer etter emulgering er tilstrekkelig til å stabilisere nydannede overflater under rekrystallisering, eventuelt en eller flere lipidoppløselige eller dispergerbare stabilisatorer tilsettes ytterligere til det smeltede materiale eller blanding av materialer,
- 5
- d. det smeltede materiale eller blanding av materialer og dispersjonsmediet emulgeres i en flytende fase ved høytrykkshomogenisering, ultralydbehandling, høyhastighetsomrøring, virveldannelse og/eller håndristing, fortrinnsvis ved høytrykkshomogenisering,
- 10
- e. den homogeniserte dispersjon får avkjøles inntil faste partikler dannes ved rekrystallisering av de dispergererte materialer.
- 15

De grunnleggende forskjeller ved fremstilling av lipid-i-vann emulsjoner ved siden av valget og iblandingsmetoden for stabilisatorene vedrører de følgende trinn:

20

- (f) Etter homogenisering kan dispersjonen bli sterilisert ved standard teknikker, slik som autoklaving eller filtrering gjennom et 0,2 μm sterilt filter, forutsatt at partiklene er små nok til ikke å bli holdt tilbake av filteret. Disse trinn må bli utført før systemet avkjøles under rekrystalliseringstemperaturen. Dessuten bør forurensninger som kunne føre til heterogen nukleering bli unngått. Det er derfor anbefalt å fjerne partikulære forurensninger fra dispersjonene ved filtrering før avkjøling under rekrystalliserings-
- 25
- 30
- temperaturer. Porestørrelsen av filteret bør bli valgt tilstrekkelig stort til ikke å holde tilbake de lipide partikler.

- (g) Dispersjonene blir tillatt å stå til avkjøling ved romtemperatur for å danne SLP ved rekrystallisering fra de dispergerte lipider. Under avkjøling kan dispersjonen bli omrørt med f.eks. en magnetisk omrører.
- 5 (h) I et påfølgende trinn blir dispersjonsmediet redusert i volum f.eks. ved inndampning eller det kan bli fjernet ved standard teknikker, slik som filtrering, ultrafiltrering eller frysetørking for således å gi et vannfritt lagringssystem som kan bli rekonstituert før
- 10 bruk. Det frysetørkede pulver kan også bli prosessert i andre farmasøytiske, kosmetika, matvare- eller agrikulturelle formuleringer, slik som pulvere, tabletter, kapsler, etc..

SLP er typisk faste partikler med anisometrisk form som

15 vist i fig. 1 og som viser et transmisjonselektronmikrografi av en fryseoppspaltet prøve av SLP fra eksempel 1. Den anisometriske partikkelform resulterer fra krystallisering av lipidmatrisen i β -polymorfisk form. Solidifisering av det amorf fett eller krystallisering av den ustabile α -polymer gir generelt sfæriske partikler. Til stedevarsel

20 av den stabile β -form burde bli påvist ved differential scanning kalorimetri (fig. 2) og synkrotronbestråling med vid-vinklet røntgenstrålediffraksjon (fig 3).

Partikkelstørrelsen av SLP avhenger av type og mengde emulgator og av emulgeringsteknikken og betingelser (se nedenfor). Resolidifiseringen av de smeltede lipider før homogenisering bør bli unngått fordi størrelsesreduksjon ved

25 homogenisering i hovedsak blir hemmet dersom partiklene er faste under dette trinn. For å sikre at de smeltede lipider ikke størkner før homogenisering, dvs. før mindre partikler kan bli dannet, blir dispersjonsmediet oppvarmet til omkring samme temperatur som smelten før de to faser blir blandet, slik at smelten ikke vil bli avkjølt ved tilsetningen av dispersjonsmediet.

30

SLP i nanometerstørrelsesområdet blir dannet ved høytrykks homogenisering. Partiklene viser en relativt smal partikkelstørrelsesfordeling med gjennomsnittlige partikkelstørrelser i område omkring 50 - 300 nm som bestemt ved fotonkorrelasjonsspektroskopi (PCS). Dispersjonene av SLP er stabile ved lagring i mer enn 18 måneder. Således er langtidsstabiliteten lik den til submikron o/v emulsjoner benyttet for parenteral ernæring. Langtidsstabilitetsdata for andre faste lipid-baserte bæredispersjoner beskrevet i patentlitteraturen, slik som liposfærer (A. Domb et al. int. søknad nr. PCT/US90/06519 innlevert 8. nov. 1990) og lipide nanopelletter (P. Speiser, eur. pat. nr. 0167825 utstedet 8. aug. 1990) kunne ikke bli funnet. Domb beskriver fosfolipidstabiliserte tristearatliposfærer med en syvdagers stabilitet som "bemerkelsesverdig stabile".

Det viste seg at stabiliseringen av SLP-suspensjoner krever tilstedeværelse av et svært mobilt stabiliseringsmiddel i dispersjonsmediet på en slik måte at mengden av høyt mobile stabilisatorer i dispersjonsmediet, etter emulgering, er tilstrekkelig til å stabilisere nydannede overflater under rekrystallisering (se nedenfor). Gallesalter, spesielt i kombinasjon med ikke-elektrolytiske forbindelser, slik som glycerol i konsentrasjoner benyttet for å oppnå blodisotoni, har vist seg å være meget effektive i denne henseende. SLP stabilisert av fosfolipider alene eller i kombinasjon med ikke-elektrolytiske forbindelser, slik som glycerol i konsentrasjoner benyttet for å oppnå blodisotoni, har en tendens til å danne semi-faste, salvelignende geler som vist på transmisjonselektronmikrografen i fig. 4, mens tilsetningen av natriumglykocolat til den vandige fase forhindrer denne geldannelse (B. Siekmann and K. Westesen, 1992, Pharm. Pharmacol. Lett. 1, 123-126).

Et molart fosfolipid- til gallesaltforhold mellom 2:1 og 4:1 viste seg å være mest effektiv med hensyn til den initielle stabilisering under homogenisering så vel som

langtidslagringsstabilitet av SLP dispersjoner. Disse fosfolipid/gallesaltforhold ligger over dannelsesforholdet av blandete miceller, og sammenfaller med en svellet lamellær fase av blandede lecitin/gallesaltlag i det ternære fasediagram av systemet lecitin/gallesalt/vann. Data antyder 5
følgelig at stabilisering er mest effektiv dersom gallesaltet ikke er bundet til blandede miceller og at under stabilisering av SLP blir gallesaltmolekylene satt inn i fosfolipidlaget på overflaten av partiklene.

10 SLP kan også bli sterisk stabilisert ved ikke-ioniske surfaktanter. Sterisk stabilisering av SLP krever imidlertid en relativt høy mengde overflateaktive midler med lipid/surfaktantforhold opp til 1:1. Det kan iakttas generelt at stabiliteten av SLP minker med økende lipid/surfaktantforhold.
15

Mengden emulgator som er nødvendig for overflatestabilisering av de dispergerte partikler er høyere enn i konvensjonelle lipidemulsjoner, f.eks. slik som benyttet i parenteral ernæring. Denne effekt kan skyldes krystalliseringen av 20
de smeltede lipider etter homogenisering. Siden lipidene typisk ikke rekrystalliserer eller eksisterer (ved lagring) i form av ideelle sfærer, men som anisometriske partikler, finnes det en stor økning i overflatearealet sammenlignet med de små dråper av de emulgerte smeltede lipider eller av 25
konvensjonelle lipidemulsjoner. De ytterligere overflater nylig dannet under rekrystallisering av polymorfe overgangsformer av de dispergerte lipider behøver å bli stabilisert umiddelbart ved dannelse for å unngå partikkelaggregering. Følgelig krever fremstillingen av SLP dispersjoner 30
tilstedeværelsen av et reservoar av stabiliseringsmidler etter emulgering.

Valget av stabilisatorer kan ikke bli utledet fra sammensetninger og stabiliseringsmekanismer for olje-i-vann emulsjoner, men er avhengig av eksistensen av høyt mobile

stabilisatorer på grunn av dannelsesmekanismen av de anisometriske partikler. I kolloid- og overflateteknikk refererer "høyt mobil" seg generelt til fri diffusjon i dispersjonsmediet ved en høy diffusjonshastighet. Med hensyn til stabiliseringen av kolloidale faste lipidpartikler bør diffusjonshastigheten være tilstrekkelig høy til å nå ferskt dannede partikkeloverflater (spesielt under rekrySTALLISERING av lipidet (før partikkelaggregering kan finne sted for å oppvise en stabiliserende virkning ved lipid/vannovergangen for å forhindre partikkelaggregering. Tilstrekkelig høye diffusjonshastigheter blir typisk observert med substanser som ikke danner en separat fase i dispersjonsmediet i henhold til fasereglen angitt av Gibbs. Høyt mobile stabilisatorer kan være av ionisk eller ikke-ionisk natur. Typisk oppløser disse stabilisatorer seg molekylært i dispersjonsmediet og/eller danner miceller. Miceller er kjent for å være høyt dynamiske strukturer særpreget ved en rask utbytning av molekyler mellom micellære aggregater og dispersjonsmediet. Monomerene i dispersjonsmediet er umiddelbart tilgjengelige for overflatestabilisering. I motsetning til dette er stabiliseringsmidler som har en tendens til å danne en separat fase i dispersjonsmediet, ikke tilstrekkelig mobile til å stabilisere fersk dannede overflater før partikkelaggregering kan finne sted. Disse stabilisatorer er følgelig derfor ikke egnet som de eneste stabilisatorer av SLP-dispersjoner. Fosfolipider er et eksempel på stabiliseringsmidler som danner en separat fase i dispersjonsmediet. Det er velkjent at fosfolipider danner lukkede lamellare strukturer, såkalte vesikler, i vandige medier, og at utbytningshastigheten av fosfolipidmolekyler mellom vesikler og den vandige fase er ekstremt liten sammenlignet med den hos miceller. Fosfolipidmolekyler er følgelig bundet i vesikulære strukturer og er ikke umiddelbart tilgjengelige for å stabilisere nydannede overflater under rekrySTALLISERING av de lipide partikler. Følgelig kan fosfolipider alene, selv om de er egnet som effektive stabilisatorer av lipidemulsjoner, ikke effek-

5 tivt stabilisere SLP suspensjoner slik det fremgår fra eks. 5 og 13. Faktist resulterer fremstilling av SLP med en standard sammensetning av lipidemulsjoner, f.eks. 10 % fett og 1,2 % fosfolipider, i ustabile SLP-dispersjoner. Enda
5 høyere konsentrasjoner av fosfolipider, slik som 20% eller 60 % lecitin i forhold til fettfasen er ikke tilstrekkelig til å stabilisere SLP-dispersjoner som vist i eksempel 5.

Skjønt angitt i patentlitteraturen (f.eks. Domb et al i US-
patent nr. 435,546 utstedet 13. nov. 1989) og int. søknad
10 nr. PCT/US90/06519 innlevert 8. nov. 1990) er fine suspen-
sjoner av faste lipider ikke ekvivalent til submikron li-
pid-emulsjoner i den forstand at interfasen kun er erstat-
tet med fast fett i stedet for flytende slike. De fysio-
kjemiske egenskaper av lipidsuspensjoner, slik som SLP er
15 vesentlig forskjellige fra den hos lipidemulsjoner. Som en
følge av disse forskjeller kan lipidsuspensjoner ikke bli
fremstilt og behandlet analogt med lipidemulsjoner. En
grunnleggende forskjell hos SLP er deres meget større
partikkeloverflateareal slik som angitt ovenfor, slik at
20 SLP krever en større mengde overflateaktivt middel som i
tillegg behøver å være sterkt mobile for umiddelbart å
stabilisere de nye overflater dannet når det smeltede lipid
rekrystalliserer eller transformerer til den stabile β -
polymorf. Den andre grunnleggende forskjell er at når SLP
25 blir dannet ved rekrystallisering av det smeltede lipid kan
enhver fornyet smelting av de små partikler resultere i en
ustabilitet av dispersjonene hvis det ikke finnes noe over-
skudd av mobil stabilisator i den vandige fase som ikke
blir adsorbert til partikkeloverflater hvor den blir immo-
30 bilisert. Et ytterligere krav for fysiokjemisk stabilitet
for SLP i motsetning til olje-i-vann emulsjoner er fraværet
av partikulære urenheter som kunne fremme heterogen nukle-
ering. Det er følgelig anbefalt å fjerne partikulære foru-
rensinger fra dispersjonene ved filtrering før avkjøling
35 under omkrystalliseringstemperaturen. Videre viste ikke-
elektrolytiske forbindelser benyttet for å oppnå blodiso-

toni, slik som glycerol, seg å fremme stabiliteten av SLP dispersjoner.

Foreliggende oppfinnelse angår også suspensjoner av partikler av bioaktive midler (PBA). Dårlig vannoppløselige substanser, slik som medikamenter, insekticider, fungicider, 5 pesticider, herbicider, gjødningsmidler, næringsmidler, kosmetiske midler, etc. som er smeltbare i temperaturområdet fra omkring 30 til 120°C kan bli formulert som PBA ved en fremgangsmåte som er lik fremstillingen av SLP som 10 beskrevet ovenfor. Matrisen av PBA omfatter det bioaktive middel i seg selv.

PBA fremskaffer en ny type avleveringssystem og kan bli karakterisert som i hovedsak submikron- og/eller mikronpartikler av bioaktive midler suspendert i et vandige medium 15 stabilisert av amfifatiske forbindelser. PBA har modifiserte overflatekarakteristika som kan bli kontrollert ved valg av amfifiler og/eller en redusert partikkelstørrelse av matrisen utgjør en forbindelse sammenlignet med den pulveriserte substans. Disse karakteristika gir opphav til en 20 modifisert biofordeling og biotilgjengelighet av de formulerte medikamenter eller andre bioaktive substanser, noe som implikerer en modifikasjon av utstrekning og grad av oppløsning og absorpsjon, sirkulasjonstid, virkningssted og fordelingsmåte av medikamentet eller annen bioaktiv substans. De fysiokjemiske egenskaper av PBA avhenger i sterk 25 grad av særtrekkene av det bioaktive middel som de er formulert fra, av type og mengde stabiliseringsmidler så vel som emulgeringsmåten. Suspensjoner og frysetørkede materialer av PBA kan anvendes for peroral, nasal, pulmonar, rektal, dermal, bukkal og, avhengig av partikkelstørrelsen, også for parenteral administrasjon av dårlig vannoppløselige medikamenter eller andre biologisk aktive 30 forbindelser. Videre kan PBA også bli benyttet i kosmetika, matvarer og agrikulturelle produkter, spesielt for formuleringen av dårlig vannoppløselige herbicider og pesticider. 35

Matrisen av PBA utgjøres av praktisk talt uoppløselige eller dårlig vannoppløselige midler med smeltepunkter fortrinnsvis under 100°C, eller hvis smeltepunkter kan bli senket til under 100°C ved tilsetningen av visse adjuvanter. Substanser som er spesielt egnet for formuleringen som PBA er medikamenter eller andre bioaktive materialer som er dårlig vannoppløselige, viser lav biotilgjengelighet og/eller blir dårlig absorbert fra tarmen. Eksempler på slike substanser omfatter, men er ikke begrenset til:

- 5
- 10 Anestetika og narkotika slik som butanilikain, fomokain, isobutamben, lidokain, risokain, prilokain, pseudokokain, tetrakain, trimekain, tropakokain og etomidat; anticholinergika slik som metiksen og profenamin; antidepressiva, psykostimuleringsmidler og neuroleptika , slik som alimenzin, binedalin, perazin, klorpromazin, fempentadiol, fenansisol, fluanisol, mebenazin, metylfenidat, tioridazin, toloksaton og trimipramin; antiepileptika, slik som dimetadion og nicetamid; antimykotika slik som butokonazol, klorfenesin, etisazol, eksalamid, pecilocin og mikonazol;
- 15
- 20 antiflogistika slik som butibufen og ibuprofen; bronchodilatorer slik som bamifyllin; kardiovaskulære medikamenter, slik som alprenolol, butobendin, kloridazol, heksobendin, nikofibrat, penbutolol, pirmenol, prenylamin, prokainamid, propatylnitrat, suloktidil, toliprolol, xibendol og vikvidil;
- 25
- 30 cytostatika slik som asperlin, klorambucil, klornafhazin, mitotan, estramustin, taksol, penklomedin og trofosfamid; hyperemiske medikamenter slik som kapsaicin og metrylnikotinat; lipide reduksjonsmidler, slik som nikoklonat, oksprenolol, pirifibrat, simfibrat og tiadenol; spasmolytika slik som aminopromazin, caronerin, difemerin, fenkarbamid, tiropramid og moksaverin; testosteronderivater slik som testosteronenantat og testosteron-(4-metylpentonoat); avslappende midler slik som azaperon og buramat; virustatika slik som arildon; vitamin A derivater, slik som retinol, retinolacetat og retinolpalmitat; vitamin E derivater
- 35
- slik som tokoferolacetat, tokoferolsuccinat og tokoferolni-

kotinat; menadion; cholekalsiferolm, insekticider, pesticider og herbicider, slik som acefat, cyflutrin, azinfosfometyl, cypermetrin, substituerte fenyltiofosfater, fenklofos, permetrin, piperonal, tetrametrin og trifluralin.

- 5 Som med SLP kan suspensjoner av PBA bli stabilisert av amfifatiske forbindelser. I hovedsak de samme ioniske og ikke-ioniske surfaktanter som kan bli benyttet for stabilisering av SLP er også egnet for fremstillingen av PBA suspensjoner. Valget av stabiliseringsmidler avhenger av de
- 10 fysiokjemiske egenskaper av både den bioaktive substans og dispersjonsmediet så vel som av de ønskede overflatekarakteristika av partiklene.

- Den vandige fase i hvilken PBA er dispergert bør inneholde vannoppløselige (eller dispergerbare) stabilisatorer;
- 15 isotonisitetsmidler, slik som glycerol eller xylitol; kryobeskyttende midler, slik som sukrose, glukose, trehalose, etc.; elektrolytter; puffere, antiflokkulanter slik som natriumcitrat, natriumpyrofosfat eller natriumdodecylsulfat; konserveringsmidler. Selv om vann er det foretrukne
- 20 dispersjonsmedium ifølge oppfinnelse er dette imidlertid ikke begrenset til vandige dispersjoner alene, men kan bli utvidet til enhver annen farmakologisk akseptabel væske, slik som etanol, propylglykol og metyl-isobutyl-eton, eller en blanding derav.

- 25 Avhengig av særtrekkene av de benyttede stabilisatorer kan sameksistens av andre kolloidale strukturer, slik som miceller og vesikler i suspensjoner av PBA ikke bli utelukket.

- Suspensjoner av PBA blir typisk fremstilt ved en emulgeringsprosess lignende den til SLP. Det smeltede medikament
- 30 eller bioaktive stoff eller en blanding av slike forbindelser emulgeres i en farmakologisk akseptert væske som ikke er blandbar med smeltet, fortrinnsvis ved høytrykkshomo-

genisering. Emulgering er også mulig ved ultralydbehandling, høyhastighetsomrøring, virveldannelse og kraftig håndristing. Væsken oppvarmes til temperaturen for smelten før blanding og kan inneholde f.eks. isotonisitetsmidler, 5 bufrende substanser, kryobeskyttende midler og/eller konserveringsmidler.

De stabiliserende amfifatiske forbindelser tilsettes enten til smelten og til væsken eller til væsken alene, avhengig av deres fysiokjemiske karakteristika. Stabilisatorer kan 10 også bli tilsatt eller byttet ut etter homogenisering, f. eks. ved adsorpsjon av polymerer eller ved dialyse.

PBA fremstilt i henhold til den ovenfor beskrevne prosess kan kategoriseres i to skillbare grupper.

15 PBA av den første gruppe er særpreget ved at de er vannoppløselige ved temperaturen for emulsjonsfremstilling, og vil ikke bli gjort oppløselig ved overskudd av stabilisatorer eller danne miceller i seg selv, idet partikkelstørrelsen av PBA forblir uendret før og etter avkjøling til romtemperatur.

20 PBA av den andre gruppe er særpreget ved at de er delvis vannoppløselige ved temperaturen for fremstilling av en emulsjon og/eller er i stand til å danne blandede miceller med overskudd av stabilisatorer og/eller danne miceller i seg selv, noe som fører til en øket partikkelstørrelse 25 etter avkjøling til romtemperatur på grunn av f.eks. krystallvekst og/eller utfelling av oppløst bioaktivt middel fra den supermettede oppløsning og/eller grunnet massetransport fra mindre til større partikler, f.eks. i miceller og/eller ved prosesser, slik som Ostwald-modning.

30 I et påfølgende trinn kan den flytende fase bli fjernet ved f.eks. frysetørking, noe som danner et rekonstituerbart pulver som også kan bli behandlet til andre farmasøytiske

formuleringer.

PBA er findispergerte partikler omfattende en matrise av bioaktivt materiale omgitt av ett eller flere lag som er rike på overflateaktivt middel. Partikkelstørrelsen og størrelsesfordelingen, så vel som partikkelformen og surfaktantbelegget avhenger av egenskapene og mengdene av de matrisedannende bioaktive substanser og stabiliseringsmidler, forholdet mellom bioaktivt materiale og amfifatiske forbindelser, så vel som emulgeringsmåten.

10 **EKSEMPLER**

Eksempel 1: Fremgangsmåte ved fremstilling av tri-palmitat SLP

I et termisk kontrollert beger oppvarmes 4,0 g tripalmitat (tripalmitin, 99% ren, Fluka) til 75°C for å smelte lipidet. I lipidsmelten dispergeres 0,48 g soyabønnelecitin ("Lipoid S 100", "Lipoid KG") ved ultralydbehandling med sonde ("MSE Soniprep 150") inntil dispersjonen synes å være optisk klar. 0,16 g natriumglykocolat (glykocolinsyre, natriumsalt 99%, Sigma) og 4 mg tiomersal (Synopharm) oppløses i 36 ml dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 75°C og tilsettes til lipidsmelten. En grovdispersjon dannes ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en temperaturregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 500 bar. Homogenisering med dette utstyr utføres ved ekstrusjon gjennom en liten ringformet åpning. Den homogeniserte dispersjon tillates å stå ved romtemperatur til avkjøling. Dispersjonen viser spormengder av synlige fettpartikler som adskilles fra dispersjonen ved å filtrere den gjennom et 0,45 µm sterilt filter.

Viktigheten av iblanding av høyt mobile surfaktanter, så

som gallesalter, med hensyn til partikkelstørrelsesfordelingen og stabiliteten av SLP dispersjoner er vist nedenfor, f.eks. i eksemplene 2, 5 til 7 og 13 til 15.

5 Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse etter fremstilling (pr. tall) av tripalmitat SLP bestemt ved fotonkorrelasjonsspektroskopi (PCS, "Malvern Zetasizer 3") i 205 nm. Etter 15 måneders lagring viser partiklene ingen tydelige tegn på aggregering, kremdannelse, sedimentering eller faseparasjon. En PCS multivinkelmåling ("Malvern Zetasizer 3", påvisning ved fem forskjellige vinkler: 50, 70, 90, 10 110 og 130 grader) viser en monomodal partikkelstørrelsesfordeling (pr. tall) med en topp ved 250 nm (fig. 5).

Ved temperaturer under smeltepunktet av lipidmatrisen er tripalmitat SLP i hovedsak anisometriske partikler som vist 15 i fig. 1 som er en transmisjonselektronmikrograf av en fryseoppdelt prøve av tripalmitat SLP i eksempel 1. Før fremstilling av prøven lagres denne ved romtemperatur i 5 måneder. Prøven fryseoppdeles ved 173 K i en fryseoppdelerenhet "BAF 400" (Balzers AG, CH-Liechtenstein). Rask frysing utføres ved innrøring i smeltende propan. Skyggelegging av prøven utføres med platina/karbon (lagtykkelse 2 20 nm) ved 45 grader og med rent karbon ved 60 grader for replikafremstilling. Replika renses med en 1:1 (volum/volum) kloroform/etanolblanding. Replika på ubelagte 25 rastere betraktes med et elektronmikroskop "EM 300" (Philips, D-Kassel).

I de anisometriske tripalmitatpartikler er glyceridet til stede i den stabile β -krystallinske polymorf som angitt ved 30 termoanalytiske undersøkelser. Fig. 2 presenterer et differensielt scanning kalorimetrisk (DSC) termogram av SLP i eksempel 1 og av rent tripalmitat. Prøvene veies nøyaktig inn i standard aluminiumskip. Termogrammer blir nedtegnet fra 20°C til 90°C ved en scannerhastighet på 10°C/min på et Perkin Elmer kalorimeter DSC-7. De påviste overgangstopper

tilsvarer smeltingen av tripalmitat β -krystaller. Smeltepunktet for tripalmitat SLP skiftes til en lavere temperatur sammenlignet med den av rent tripalmitat på grunn av tilstedeværelsen av fosfolipider og på grunn av den lille krystallittstørrelse.

Eksempel 2: Fremgangsmåte ved fremstilling av isotonisk tripalmitat SLP

7,0 g tripalmitat (tripalmitin, Fluka) smeltes i et temperaturkontrollert beger ved 75°C. 840 mg soyabønne lecitin ("Lipoid S 100", "Lipoid KG") dispergeres i tripalmitat-smelten som beskrevet i eksempel 1. Den vandige fase inneholdende 1.575 g glycerol, 280 mg natriumglykocolat og 4 mg tiomersal oppvarmes til 75°C og tilsettes til den lipide smelte til en vekt på 70 g. En grovdispersjon dannes ved ultralydbehandling i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatstyrt høytrykkshomogenisator ("APV Gaulin Micron Lab 40") og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Den homogeniserte dispersjon tillates å stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse pr. tall av det isotoniske tripalmitat SLP bestemt ved PCS er 125,9 nm etter fremstilling og 116,2 nm etter 50 dagers lagring, dvs. det var praktisk talt ingen partikkelvekst. De små avvik i verdiene faller inn under nøyaktighetsområdet av den størrelsesbestemmende metode. PCS partikkelstørrelsesfordelingen sammenlignes med den til den kommersielt tilgjengelige lipidemulsjon for parenteral ernæring "Intralipid™" i fig. 6. Intralipid™ består av 10% soyabønneolje, 1,2 % fraksjonerte fosfolipider og 2,25 % glycerol dispergert i vann for injeksjon. Det kan bli observert at partikkelstørrelsesfordelingen av tripalmitat SLP i eksempel 2 er betydelig mindre og smalere enn for "Intralipid™". I motsetning til eksempel 1 resulterer tilsetningen av glycerol i en merkbar forskjell i partikkelstørrelsesfordeling. Mens

SLP dispersjonen i eksempel 1 inneholder spormengder av synlige suspensjonspartikler etter å ha blitt avkjølt til romtemperatur fra den varme emulsjon blir ingen makroskopisk synlige suspensjonspartikler observert i dispersjonen fra eksempel 2.

Undersøkelse med synkrotronbestråling vid-vinkel røntgen-diffraksjon (Fig. 3) og differensial scanning-kalorimetri viser at tripalmitatet i SLP er til stede i den stabile β -polymorfe form ved romtemperatur.

10 Eksempel 3: Fremstilling av hard fett SLP ved mikrofluidisering

3,0 g hardt fett "Witepsol™ W 35", Hüls AG) smeltes i et termostatisk kontrollert beger ved 75°C. 1,8 g soyabønnelecitin ("Phospholipon 100", Natterman) dispergeres i tripalmitatsmelten som beskrevet i eksempel 1. Den vandige fase inneholdende 375 mg natriumglykocolat, 2,25 g glycerol og 10 mg tiomersal oppvarmes til 75°C og tilsettes lipidsmelten til en vekt på 100 g. En grovdispersjon dannes ved ultra-turraks virveldannelse i omkring 2 minutter.

20 Grovdispersjonen overføres til en mikrofluidisator (Microfluidics Mikrofluidizer M-110T) som er en høytrykkshomogenisator basert på jetstrømsprinsippet som er neddykket i et termostatregulert vannbad (70°C). Dispersjonen sykliseres gjennom mikrofluidisatoren i 10 minutter og tillates å stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av hardfett SLP etter fremstilling er 45,9 nm som bestemt ved PCS.

Under homogeniseringen trekkes en prøve for partikkelstørrelsesbestemmelse for hvert minutt for å overvåke tidsforløpet for homogenisering. Fig. 7 viser gjennomsnittlig partikkelstørrelse mot homogeniseringstid. Den gjennomsnittlige partikkeldiameter minker med tiden og flater ut

mot slutten av homogeniseringen.

Eksempel 4: Langtidsstabilitet av hardfett SLP fremstilt ved mikrofluidisering.

5 Stabiliteten av hardfett-SLP overvåkes over en periode på ett år. Under denne tid lagres prøven i et kjøleskap ved omtrent +4°C. Etter visse tidsintervaller blir partikkelstørrelsesfordelingen i prøven bestemt ved PCS. Fig. 8 demonstrerer at gjennomsnittlig partikkelstørrelse av hardfett SLP er praktisk talt konstant over den overvåkede
10 periode på ett år.

Eksempel 5: Fremstilling av ustabile SLP dispersjoner.

I et termostatregulert beger oppvarmes 4,0 g tripalmitat ("Dynasan 116", Hüls AG) til 75°C for å smelte lipidet. I
15 lipidsmelten dispergeres 0,48 g soyabønne-lecitin ("Lipoid S 100"; Lipoid KG) ved ultralydbehandling med sonde ("MSE Soniprep 150") inntil dispersjonen synes optisk klar. 4 mg tiomersal og 0,9 g glycerol oppløses i 35,6 ml dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 75°C og
20 tilsettes lipidsmelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator "APV Gaulin Micron Lab 40") og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved en trykk på 500 bar. Den homogeniserte dispersjon tillates å stå ved romtemperatur til
25 avkjøling. Ved lagring blir SLP dispersjonen en melkeaktig, semifast, salvelignende gel.

3,0 g hardt fett "Witepsol™ W35", Hüls AG) smeltes i et termostatregulert beger ved 75°C. 1,8 g soyabønne-lecitin "Phospholipon 100", Natterman) dispergeres i tripalmitat-
30 smelten som beskrevet i eksempel 1. Den vandige fase inneholdende 10 mg tiomersal oppvarmes til 75°C og tilsettes til den lipide smelte til en vekt på 100 g. En grovdisper-

sjon dannes med ultraturraks virveldannelse i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en mikrofluidisator ("Microfluidics Microfluidizer M-110T") som er neddykket i et termostatregulert vannbad (70°C). Dispersjonen føres gjennom mikrofluidisatoren i 10 minutter og tillates å stå ved romtemperatur til avkjøling. Ved lagring blir SLP dispersjonen en turbid semi-fast, salvelignende gel. En transmisjonselektronmikrograf av denne gel er vist i fig. 4.

10 I et termostatregulert beger oppvarmes 4,0 g tripalmitat ("Dynasan 116", Hüls AG) til 80°C for å smelte lipidet. I lipidsmelten dispergeres 0,8 g av en soyabønne-lecitinblending ("Lipoid S 75", Lipoid KG) ved ultralyd med sonde ("MSE Soniprep 150") inntil dispersjonen synes optisk klar.

15 4 mg tiomersal oppløses i 35,6 ml dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 80°C og tilsettes til lipidsmelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator

20 ("APV Gaulin Micron Lab 40") og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Den homogeniserte dispersjon fylles i et glassbeger og tillates å stå ved romtemperatur til avkjøling. Ved avkjøling til romtemperatur danner dispersjonen fettaggregater med semifast utseende på veggen av glassbegeret. Dispersjonen gelatiniserer

25 når skjærkrefter tilføres, f.eks. ved å passere den gjennom en hypodermisk sprøyte.

Innlysende gir ikke bruken av fosfolipider kun som stabilisatorer, som funnet i kommersielle parenterale olje-i-vann emulsjoner, stabile systemer i tilfellet av SLP suspensjoner. Selv anvendelsen av fosfolipider, slik som "Lipoid S 75", som innbefatter en vesentlig høy negativ nettoladning, kan ikke gi en tilstrekkelig stabilisering. Elektrostatisk frastøtning alene kan ikke være den grunnleggende stabiliseringsmekanisme av SLP slik som vil bli ytterligere skis-

35

sert i eksemplene 6, 7 og 13.

Eksempel 6: Fremstilling av tripalmitat SLP som er sterisk stabilisert av tyloksapol

5 En serie av tripalmitat SLP-dispersjoner stabilisert av tyloksapol (Eastman Kodak) fremstilles med varierende lipid/surfaktantforhold. SLP-dispersjonene fremstilles i henhold til den følgende prosedyre:

10 Tyloksapol oppløses i oppvarmet dobbeltdestillert vann mens temperaturen holdes under tilsløringspunktet for tyloksapol (omkring 90-95°C). Tyloksapoloppløsningen med en temperatur på 80°C tilsettes til det smeltede tripalmitat eller henholdsvis tripalmitat/lecitin-dispersjon med samme temperatur. En grovemulsjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Deretter passerer grovemulsjonen 15 5 ganger gjennom en høytrykkshomogenisator med et trykk på 1200 bar. Den homogeniserte dispersjon får stå ved romtemperatur til avkjøling. Alle dispersjoner inneholder 2,5% glyserol og 0,01% tiomersal.

20 Tabell 1 gir sammensetningen av de fremstilte SLP-dispersjoner og deres gjennomsnittlige partikkelstørrelse etter fremstilling (pr. antall) som bestemt ved PCS. Asterisken (*) i partikkelstørrelseskolonnen indikerer at dispersjonene oppviser en bimodal størrelsesfordeling med partikkelstørrelser vesentlig større enn indikert av den gjennomsnittlige partikkelstørrelse. Det viser seg at sterisk 25 stabiliserte SLP-dispersjoner krever en stor mengde overflateaktivt middel for å oppnå SLP med homogen størrelse. I tilfeller med SLP stabilisert av tyloksapol og fosfolipider behøver forholdet mellom surfaktantene å bli optimalisert. 30 I foreliggende serie viste et tyloksapol/lecitin-forhold på minst 1:1 seg å gi SLP av homogen størrelse. Med økende forhold minsker den gjennomsnittlige partikkelstørrelse. Som med eksemplene 1 til 3 er tilsetning av høymobil sur-

faktant som er i stand til å danne miceller nødvendig for å danne stabile dispersjoner. Den store mengde overflateaktivt middel er nødvendig for å danne et reservoar av overflateaktivt middel i dispersjonsmediet som kan gi nok

5 surafaktantmolekyler ved det øyeblikk når de smeltede lipider rekrystalliserer og danner anisometriske partikler med et stort spesifikt overflateareale.

Tabell 1: SLP-dispersjoner som er sterisk stabilisert av tyloksapol

Sammensetning (vekt%)			Gjennomsnittlig partikkelst. (nm)
TP	Tyl	PL	
10	2	-	138,0*
10	4	-	84,9
10	0,7	2	487,4*
10	1	2	207,4*
10	2	2	102,8
10	4,5	3	60,9

10 Forkortelser: TP = tripalmitat, Tyl = tyloksapol, PL = fosfolipider (Lipoid S 100).

Eksempel 7: Fremstilling av tripalmitat SLP som er sterisk stabilisert av poloksamer.

1,2 g soyabønne-lecitin (Lipoid S 100, Lipoid KG) dispergeres i 4,0 g smeltet tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved

15 ultralydbehandling med sonde ved en temperatur på 80°C. 1,8 g poloksamer (Pluronic® F68, BASF), 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal oppløses i 32,1 g dobbeltdestillert vann oppvarmet til 80°C. Den oppvarmede oppløsning tilsettes til

20 lipidsmelten og en grovdispersjon fremstilles ved 2 minutters ultralydbehandling med sonde. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. Den homogeniserte

25 dispersjon får stå ved romtemperatur for avkjøling.

De poloksamerstabiliserte SLP oppviser en monomodal størrelsesfordeling med en gjennomsnittlig partikkelstørrelse (pr. antall) etter fremstilling på 77,9 nm bestemt ved PCS. Grunnet tilstedeværelsen av et overskudd av høymobil surfaktant i den vandige fase, er systemet stabilisert ved rekrystallisering av de smeltede lipider, og en geldannelse som funnet hos systemer stabilisert med kun fosfolipider inntreffer ikke.

Eksempel 8: Innvirkning av homogeniseringstrykk på gjennomsnittlig partikkelstørrelse av SLP.

SLP med den følgende sammensetning fremstilles ved forskjellige homogeniseringstrykk. SLP-dispersjonene består av 3% tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG), 1,5% tyloksapol, 1% soyabønnelecitin (Lipoid S 100, Lipoid KG), 0,01% tiomersal og dobbeltdestillert vann opptil 100% (pr. vekt). Lecitinet dispergeres i det smeltede tripalmitat (80°C) ved ultralyd-behandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. Tyloksapol oppløses i varmt vann (80°C) inneholdende tiomersal. SLP-dispersjonene fremstilles som beskrevet i eksempel 6.

Figur 9 viser innvirkningen av homogeniseringstrykk på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av SLP. Med økende trykk mister partikkelstørrelsen og partikkelstørrelsesfordelingen blir smalere.

Eksempel 9: Innvirkning av homogeniseringspassasjer på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av SLP.

Tripalmitat SLP bestående av 3% tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG), 1,5% tyloksapol, 1% soyabønnelecitin (Lipoid S 100, Lipoid KG), 0,01% tiomersal og dobbeltdestillert vann til 100% (pr. vekt) fremstilles ved et trykk på 800 bar som beskrevet i eksempel 6. Prøver for størrelsesmålinger blir tatt fra dispersjonen etter fremstilling av grovemulsjonen

og etter hver passasje gjennom homogenisatoren.

Figur 10 viser innvirkningen av antallet homogeniseringspassasjer på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av SLP, som minker med økende antall passasjer.

- 5 Eksempel 10: Fremstilling av SLP ved ultralydbehandling med sonde - Innvirkning av ultralydbehandlingstiden på gjennomsnittlig partikkelstørrelse av SLP.

I et ultralydbeger termostatregulert ved 80°C smeltes 1,20 g tripalmitat. I lipidsmelten dispergeres 0,40 soyabønnelecitin (Lipoid S 100) ved ultralydbehandling med sonde
10 inntil dispersjonen synes optisk klar. 0,60 g tyloksapol og 4 mg tiomersal oppløses i dobbeltdestillert vann oppvarmet til 80°C. Den vandige fase tilsettes til lipidsmelten, og en SLP-dispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med
15 sonde ved 80°C. Ultralydanordningen arbeider ved 50% av sin maksimale effekt. Ved visse tidsintervaller (1, 5, 10 og 15 minutter) blir det tatt prøver fra dispersjonen for størrelsesmålinger. Etter 30 minutter stoppes ultralydbehandlingen med sonde, og dispersjonen får stå ved romtemperatur
20 til avkjøling. Innvirkningen av ultralydbehandlingstid på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av SLP er vist i figur 11. Med økende ultralydbehandlingstid minsker den gjennomsnittlige partikkelstørrelse og størrelsesfordelingen blir smalere.

- 25 Eksempel 11: Fremstilling av SLP ved omrøring.

En SLP-dispersjon sammensatt som i eksempel 9 og 10 fremstilles ved bruk av en oppvarmet magnetrører (Pyro-Magnetstir, Lag-Line). Lecitinet dispergeres i tripalmitatet som beskrevet tidligere. Den oppvarmede vandige fase tilsettes
30 smelten. En dispersjon dannes ved å omrøre blandingen i 30 minutter ved en temperatur på 80°C. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse etter fremstilling (pr. volum) av SLP-dispersjonen er 59,5 µm bestemt ved laserdiffraktometri (Malvern Mastersizer MS20). Den maksimale partikkelstørrelse som er målt, er 250 µm. I motsetning til høytrykkshomogenisering og ultralydbehandling med sonde gir omrøring relativt store partikler i mikrometerstørrelsesområdet.

Eksempel 12: Innvirkning av matrisebestanddelen på gjennomsnittlig partikkelstørrelse av SLP.

- 10 SLP-dispersjoner bestående av 10% matrisebestanddel, 1,2% soyabønnelecitin (Lipoid S 100), 0,4% natriumglykocolat, 2,25% glyserol og 0,01% tiomersal i dobbeltdestillert vann til 100% fremstilles som beskrevet i eksempel 1. Fem forskjellige matrisebestanddeler anvendes: Vokstypene
- 15 cetylpalmitat og hvit bivoks og triglyseridene trilaurat, trimyristat og tripalmitat.

Tabell 2 viser PCS gjennomsnittlige partikkelstørrelser av forskjellige SLP-dispersjoner og smeltepunktene for matrisebestanddelene.

- 20 Tabell 2: Innvirkning av matrisebestanddeler.

Matrise	Smeltepunkt (°C)	Gj.sn.størrelse for SLP (nm)
Cetylpalmitat	45,5	141,0
Hvit bivoks	62,5	195,3
Trilaurat	45,0	137,2
Trimyristat	56,5	161,1
Tripalmitat	63,0	209,2

Gjennomsnitts partikkelstørrelse for faste lipidpartikler øker med smeltepunktet for matriksbestanddelen.

- 25 Eksempel 13: Innvirkning av emulgatortype og -mengde på gjennomsnittlig partikkelstørrelse og stabilitet av SLP.

Tripalmitat SLP-dispersjoner med forskjellige typer og mengder emulgatorer fremstilles som beskrevet i eksempel 2. Sammensetningen av forskjellige porsjoner er gitt i tabell 3. Alle dispersjoner inneholder 2,25% glyserol og 0,01% tiomersal.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av de forskjellige porsjoner av SLP er vist i figur 12. Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse avhenger av emulgatorens type og mengde.

Tabell 3: Sammensetning av SLP-porsjoner (i vekt%).

Porsjon nr.	TP	PL	SGC	Plu
1	10%	1,2%	-	-
2	10%	1,2%	0,4%	-
3	10%	2,4%	0,4%	-
4	10%	-	-	1,8%
5	10%	-	-	3,6%

10

Forkortelser: TP = tripalmitat, PL = fosfolipider (Lipoid S 100), SGC = natriumglykocolat, Plu = Pluronic F68.

Kombinasjonen av fosfolipider og gallesalter er mest effektiv med hensyn til den gjennomsnittlige partikkelstørrelse og stabiliteten. Systemet stabilisert med fosfolipider gelatiniserer kun og danner en salvelignende halvfast gel ved lagring. Systemene stabilisert med Pluronic F68 har en tendens til å gelatinisere når skjærkrefter tilføres, dvs. når partiklene tvinges til å komme nærmere hverandre. Innlysende er den steriske stabilisering av poloksamerer ikke tilstrekkelig i dette tilfelle. Som et resultat er den optimale stabilisering den med en surfaktantkombinasjon av emulgatorer som er til stede i og virker fra lipidsiden (så som fosfolipider) og av emulgatorer som utgjør et reservoar av høymobile surfaktantmolekyler i dispersjonsmediet (så som gallesalter, tyloksapol og poloksamerer). Selv om frastøtningskrefter representerer en viktig faktor for langtidstabilitet, er den grunnleggende mekanisme for SLP-

25

stabilisering den høye mobilitet av overskuddet av surfaktant som sørger for umiddelbar overflatedekning av nylig dannede overflater under rekrystallisering av de smeltede lipider.

- 5 Eksempel 14: Effekt av gallesalt som koemulgator for fosfolipidstabiliserte SLP.

Fosfolipidstabiliserte SLP-dispersjoner som anvendes for skjellige matriser (tripalmitat, hardt fett) fremstilles med eller uten tilsetning av gallesalt (natriumglykocolat) til den vandige fase i henhold til metoden beskrevet i eksempel 1. Alle dispersjoner inneholder 2,25% glyserol og 0,01% tiomersal. Emulgering av grovdispersjonene utføres ved høytrykkshomogenisering (APV Gaulin Micron Lab 40) under forskjellige homogeniseringsbetingelser. De følgende dispersjoner ble fremstilt:

	<u>Sammensetning</u>	<u>Homogeniseringsbetingelser</u>
	7,0 g TP, 0,84 g PL, 62,2 g H ₂ O	3 x 500 bar
	7,0 g TP, 0,84 g PL, 0,28 g BS, 61,9 g H ₂ O	3 x 500 bar
	7,0 g TP, 0,84 g PL, 62,2 g H ₂ O	10 x 1200 bar
20	7,0 g TP, 0,84 g PL, 0,28 g BS, 61,9 g H ₂ O	10 x 1200 bar
	7,0 g HF, 0,84 g PL, 62,2 g H ₂ O	3 x 500 bar
	7,0 g HF, 0,84 g PL, 0,28 g BS, 61,9 g H ₂ O	3 x 500 bar
	7,0 g HF, 0,84 g PL, 62,2 g H ₂ O	10 x 1200 bar
	7,0 g HF, 0,84 g PL, 0,28 g BS, 61,9 g H ₂ O	10 x 1200 bar

- 25 Forkortelser: BS = gallesalt, H₂O = dobbeltdestillert vann, HF = hardt fett (Witepsol W35), PL = fosfolipider (Lipoide S 100), TP = tripalmitat.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av dispersjonene som bestemt ved PCS etter fremstilling er vist i figur 13. Dette eksempel viser effekten av gallesalter som ko-emulgator i den vandige fase på partikkelstørrelsen av fosfolipidstabiliserte SLP. Det er klart vist at tilsetningen av

gallesalter reduserer den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av SLP med opptil 57%. Ved bruk av gallesalter som ko-emulgator kan det således bli dannet ekstremt fine dispersjoner. Effekten av gallesaltet kan tilskrives den høye mobilitet av denne micelledannende ioniske surfaktant, som gjør det mulig for surfaktantmolekylene umiddelbart å dekke nydannede overflater i løpet av homogeniseringsprosessen. Fosfolipidene som har en tendens til å danne flytende krystallinske strukturer i den vandige fase, er ikke tilstrekkelig mobile til å gi umiddelbar stabilisering av nydannede partikler, slik at umiddelbar koalesens inntreffer i tilfeller hvor det ikke er noen høymobil ko-surfaktant i den vandige fase.

Eksempel 15: Fremstilling av trimyrinstat SLP stabilisert med en lecitin/gallesalt-blanding.

I et termostatregulert beger smeltes 7,0 g trimyrinstat (Dynasan 114, Hüls AG) ved 70°C. 0,96 g fosfolipider (Lipoid S 100) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. En oppløsning av 280 mg natriumglykocolat, 1,6 g glycerol og 7 mg tiomersal i 61 ml dobbeltdestillert vann oppvarmes til 70°C og tilsettes til smelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en høytrykks-homogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) termostatregulert ved omkring 90°C og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 500 bar. Den homogeniserte dispersjon får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse etter fremstilling bestemt ved PCS er 155,7 nm. I laserdiffraktometri (Malvern Mastersizer MS20) kan ingen partikler over 1 µm påvises. Partikkelstørrelsesfordelingen avledet fra laserdiffraktometri er vist i figur 14. Dette eksempel viser at bruken av gallesalter som ko-emulgator av fosfolipidstabiliserte SLP effektivt forhindrer dannelsen av partikler større enn 1 µm

grunnet den raske dekning av nydannede oveflater under homogenisering, for derved å minimalisere umiddelbar koalesens.

5 Eksempel 16: Fremstilling av tripalmitat SLP uten ultralyd-behandling (metode A).

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 85°C. 0,96 g lecitin (Lipoid S 100) oppløses i etanol. Lecitinoppløsningen tilsettes til smelten. Etanolet inndampes ved en temperatur på 85°C. 160 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal
10 oppløses i 35 ml dobbeltdestillert vann. Oppløsningen oppvarmes til 85°C og tilsettes smelten. En grovdispersjon fremstilles med ultra-turrax virveldannelse i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en høytrykks-
15 homogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) termostatregulert ved omkring 90°C og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Den homogeniserte dispersjon får stå ved romtemperatur til avkjøling.

20 Eksempel 17: Fremstilling av tripalmitat SLP uten ultralyd-behandling (metode B).

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 85°C. 0,96 g lecitin (Lipoid S 100) tilsettes smelten. Blandingen ristes inntil lecitinet er fullstendig dispergert i smelten og dispersjonen virker
25 isotropisk. 160 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal oppløses i 35 ml dobbeltdestillert vann. Oppløsningen oppvarmes til 85°C og tilsettes så smelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultra-turrax virveldannelse i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en
30 høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) termostatregulert ved omkring 90°C og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Den homogeniserte dispersjon får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Eksempel 18: Fremstilling av tripalmitat-SLP ved å dispergere fosfolipider i den vandige fase.

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat (Dynasan 116) ved 80°C. 0,96 g fosfolipider (Lipoid S 100) dispergeres i 35 ml av en vandig oppløsning av 160 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal ved omrøring i omkring 1 time. Fosfolipiddispersjonen oppvarmes til 80°C og tilsettes tripalmitatsmelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) termostatregulert ved omkring 90°C og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Den homogeniserte dispersjon får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Eksempel 19: Fremstilling av tripalmitat-SLP stabilisert med en høymobil surfaktant.

I et termostatregulert beger smeltes 5,0 g tripalmitat ved 80°C. 600 mg natriumglykocolat oppløses i 44,4 g dobbeltdestillert vann inneholdende 1,13 g glyserol og 0,01% tiomersal. Den vandige oppløsning oppvarmes til 80°C og tilsettes smelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling i omkring 5 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 8 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse (pr. antall) av SLP-dispersjonen etter fremstilling er 96,8 nm bestemt ved PCS. Størrelsesfordelingen er smal og monomodal.

30 Dette eksempel viser at det er mulig å fremstille små SLP med homogen størrelse ved bruk av en surfaktant alene, så som gallesaltet natriumglykocolat, forutsatt at surfak-

tanten er høymobil og utgjør et reservoar av stabilisator i den vandige fase for å fremskaffe stabilisering av nylig dannede overflater under rekrystallisering av SLP-matrisen.

5 Eksempel 20: Langtidsstabilitet av forskjellige SLP-dispersjoner.

Flere forskjellige SLP-dispersjoner fremstilles i henhold til metoden beskrevet i eksempel 2. Alle dispersjoner inneholder 2,25% glyserol som isotonisitetsmiddel og 0,01% tiomersal som konserveringsmiddel. Langtidsstabiliteten av dispersjonene blir vurdert ut fra gjentatte størrelsesmålinger (med PCS) over en periode på 18 måneder. Dispersjonene lagres ved kjøleskapstemperaturer. For sammenligning inkluderes et soyabønneolje-emulsjonssystem. Sammensetningen av dispersjonene og deres gjennomsnittlige partikkelstørrelser er oppsummert i tabell 4.

Tabell 4

Sammensetning (vekt%)			Gj.snittl. partikkelstørrelse (nm) etter	
Matriks	Pl	SGC	fremstilling	18 mndr
10% TP	1,2%	0,4%	125,9	121,6
10% TP	2,4%	0,4%	104,5	111,2
10% TP	2,4%	0,4%	103,6	104,7
9,5% TP ¹⁾				
0,5% GMS	2,4%	0,4%	102,4	102,4
10% SO	2,4%	0,4%	129,6	139,9

Forkortelser: PL = fosfolipid (Lipoid S 100), SGC = natriumglykocolat, TP = tripalmitat, GMS = glyserolmonostearat, SO = soyabønneolje.

20 ¹⁾ SLP-dispersjonen inneholder 5% (i forhold til fettfasen) av det kardiobeskyttende medikament "ubidecarenone".

Det er vist at den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av dispersjonene forblir praktisk talt uendret under lagring i 18 måneder. Således viser resultatene at medikamentfrie og medikamentinnholdende SLP-dispersjoner viser en langtids-

stabilitet som ligner den for lipidemulsjoner.

Eksempel 21: Sterilfiltrering av tripalmitat-SLP.

40 ml grov SLP-dispersjon bestående av 3% tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG), 1,5% tyloksapol, 1% lecitin (Lipoid S 100), 2,25% glyserol og 0,01% tiomersal i dobbeldestillert vann til 100% fremstilles i henhold til metoden beskrevet i eksempel 6. Grovdispersjonen passerer 5 ganger gjennom en termostatregulert homogenisator (APV Micro Lab 40) ved et trykk på 1200 bar. Halvparten av porsjonens volum får stå ved romtemperatur til avkjøling, mens resten filtreres gjennom et sterilt sprøytefilter (Nalgene SFCA, 0,2 µm porestørrelse) før den blir avkjølt til rekrytalliseringstemperaturen av de smeltede lipider.

Partikkelstørrelsesfordelingen av begge prøver bestemmes med PCS. Den midlere partikkelstørrelse for den ufiltrerte prøve er 56,7 nm og den for den sterilfiltrerte SLP-dispersjon er 53,2 nm, dvs. begge prøver har praktisk talt samme gjennomsnittlige partikkelstørrelse.

Eksempel 22: Sterilisering av tripalmitat-SLP ved autoklaving.

40 ml av en grov SLP-dispersjon bestående av 3% tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG), 1,8% lecitin (Lipoid S 100), 0,6% natriumglykocolat, 2,25% glyserol og 0,01% tiomersal i dobbeldestillert vann til 100% fremstilles i henhold til metoden beskrevet i eksempel 2. Grovdispersjonen passerer 10 ganger gjennom en termostatregulert homogenisator (APV Micron Lab 40) ved et trykk på 1200 bar.

Før den blir avkjølt til de smeltede lipidens krystalliseringsstemperatur fylles SLP-dispersjonen i et injeksjonsbeholder og steriliseres ved autoklaving ved 121°C/2 atm i 45 minutter. Den autoklaverte dispersjon får stå ved rom-

temperatur til avkjøling. Den viser ingen tegn på aggregering eller faseseparasjon og har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse på 65,9 nm, bestemt ved PCS.

Eksempel 23: Frysetørking av SLP.

- 5 I et termostatregulert beger smeltes 3,5 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 75°C og 1,05 g lecitin (Lipoid S 100, Lipoid KG) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 1,58 g tyloksapol, 14 g sukrose og 7 mg tiomersal oppløses i 50 ml dobbeltdestillert vann oppvarmet
- 10 til 75°C, og den vandige fase tilsettes lipidsmelten. En grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde og passerer deretter 5 ganger gjennom en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) ved et trykk på 900 bar. Den homogeniserte dispersjon passerer
- 15 gjennom et 0,2 µm sterilfilter.

For frysetørking fylles dispersjonen i flatbunnede begre som neddykkes i flytende nitrogen i 1 minutt og overføres til frysetørkekammeret. Prøvene frysetørkes i 36 timer under vakuum ved en mottakende temperatur på -40°C.

- 20 Frysetørking gir lett redispergerbare fine pulvere. Partikkelstørrelsen for SLP-dispersjonene bestemmes ved PCS før frysetørking og etter rekonstituering av de frysetørkede pulvere med dobbeltdestillert vann. Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse før frysetørking er 79 nm, og den for
- 25 den rekonstituerte dispersjon er 87 nm, dvs. det finnes praktisk talt ingen endring i gjennomsnittlig partikkelstørrelse etter frysetørking.

Eksempel 24: Overflatemodifisering ved adsorpsjon av polymerer.

- 30 I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 80°C og 1,6 g soyabønnelecitin

(Lipoid S 100) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 35,25 g av en vandig oppløsning av 0,01% tiomer-
 5 sal oppvarmes til 80°C og tilsettes smelten. En grovdisper-
 sjon dannes ved ultralydbehandling med sonde og som så
 10 passeres gjennom en høytrykkshomogenisator ved et trykk på
 1200 bar. Dispersjonen filtreres gjennom et 0,2 µm sprøy-
 tefilter. Porsjonen oppdeles i tre deler med like volumer.
 En del fortynnes med samme mengde vann og lagres ved 90°C
 15 for å forhindre geldannelse av den fosfolipidstabiliserte
 dispersjon ved avkjøling under rekrystalliseringstemperatu-
 ren. De andre to deler av porsjonen inkuberes over natten
 med like volumer av henholdsvis 6% (w/w) poloksamer 407-
 (Pluronic F127, BASF) og 6% (w/w) poloksamin 908 (Tetronic
 908, BASF)-oppløsning på en slik måte at polymeroppløsning-
 20 gen tilsettes til SLP-dispersjonen før den blir avkjølt
 under rekrystalliseringstemperaturen for SLP for å gi
 umiddelbar tilgjengelighet av polymermolekylene så snart
 nye overflater blir dannet grunnet rekrystallisering. Begge
 polymerer har blitt beskrevet i litteraturen som å modifi-
 sere biofordelingen av intravenøst tilførte kolloidale par-
 tikler.

Modifiseringen av overflateegenskapene av faste lipidpar-
 tikler av tripalmitat blir vist ved forskjeller i zeta-
 25 potensialet. Zetapotensialer ble bestemt ved laser Doppler
 anemometri i en mikroelektroforesecelle (Malvern Zetasizer
 3). Resultatene er oppsummert i tabell 5.

Tabell 5: Zetapotensiale av overflatemodifiserte SLP

Sammensetning [% (w/w)]			Zetapotensiale [mV]
TP	PL	Polymer	
5%	2%	-	-29,6
5%	5%	3% F127	-1,9
5%	2%	3% T908	-2,9

Forkortelser: TP = tripalmitat, PL = fosfolipider, F127 = pluronic F127, T908 = Tetronic 908

5 Inkuberingen av SLP med blokk-kopolymerer av poloksamer- og poloksamin-typen resulterer i en minkning i zetapotensialet. Grunnet adsorpsjonen av polymerene blir overflatene mer hydrofobe. Hydrofobisiteten av overflaten er beskrevet til å være en av faktorene som styrer RES (det reticulo-endoteliale system)-aktiviteten og biofordelingen av kolloidale partikler.

10 Eksempel 25: Fremstilling av SLP inneholdende det kardiobeskyttende medikament ubidecarenon.

Tre forskjellige typer SLP inneholdende det kardiobeskyttende medikament ubidecarenon fremstilles. Disse SLP er oppbygget som oppsummert i tabell 6. Alle dispersjoner
15 inneholder 2,25% glycerol og 0,01% tiomersal.

Porsjon 1 og 2 fremstilles ved å dispergere lecitin i den smeltede matrisebestanddel som beskrevet ovenfor. I denne smelte oppløses ubidecarenon. Etter tilsetning av den vandige fase inneholdende natriumglykocolat, glycerol og
20 tiomersal, fremstilles en grovdispersjon ved ultralydbehandling med sonde. Denne overføres til en termostatregulert homogenisator (APV Micron Lab 40) og passerer gjennom homogenisatoren 10 ganger ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

25 Porsjon 3 fremstilles ved å dispergere lecitin i den smeltede matrisebestanddel som beskrevet tidligere. I denne smelte oppløses ubidecarenon. Etter tilsetning av den vandige fase inneholdende tyloksapol, glyserol og tiomersal, fremstilles en grovdispersjon ved ultralydbehandling
30 med sonde. Denne overføres til en termostatregulert homogenisator (APV Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. Dispersjonen får

stå ved romtemperatur til avkjøling.

Tabell 6: Ubidecarenon-inneholdende faste lipidpartikler.

Porsj. nr.	Sammensetning	Gj.snittl. part.størr.
1	10% TP, 2,4% PL, 0,4% SGC, 1% Ubi	80,2 nm
2	10% HF, 1,2% PL, 0,4% SGC, 1% Ubi	78,9 nm
3	3% TP, 1,5% Tyl, 1% PL, 0,2% Ubi	46,8 nm

Forkortelser: TP = tripalmitat, PL = fosfolipider, SGC = natriumglykocolat, Ubi = Ubidecarenon, HF = hardt fett
5 (Witepsol W35), Tyl = Tyloksapol.

Eksempel 26: Fremstilling av SLP inneholdende oksazepam.

I et termostatregulert beger smeltes 7,0 g tripalmitat ved 80°C, 1,68 lecitin og 140 mg oksazepam dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 60 ml oppvarmet vandig fase inneholdende 280 mg natriumglykocolat, 1,58 g glyserol og 7 mg tiomersal tilsettes til smelten, og en grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde. Grovdispersjonen homogeniseres ved passering 10 ganger gjennom en termostatregulert høytrykkshomogenisator ved et rykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling. Dispersjonen av oksazepam-inneholdende faste lipidpartikler har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse på 122,7 nm etter fremstilling.

Eksempel 27: Fremstilling og langtids-stabilitet av SLP inneholdende diazepam.

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat ved 80°C. 0,96 g lecitin og 120 mg diazepam dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 35 ml oppvarmet vandig fase inneholdende 160 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal tilsettes smelten, og en grovdispersjon fremstilles med ultralyd med sonde. Grovdispersjonen homogeniseres ved passering 10 ganger gjennom en

termostatregulert høytrykkshomogenisator ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

5 Dispersjonen av diazepaminnholdende SLP har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse etter fremstilling på 104,6 nm. Etter 12 måneders lagring er den gjennomsnittlige partikkelstørrelse bestemt ved PCS 113,9 nm. Utfelling av medikamentsubstans under lagring blir ikke påvist makroskopisk. Undersøkelser av dispersjonen ved polarisert lysmikroskopi
10 over den overvåkede periode på 12 måneder viser ikke tilstedeværelse av medikamentkrystaller.

Eksempel 28: Fremstilling av SLP inneholdende lidokain.

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat ved 80°C. 0,96 g lecitin og 60 mg lidokain dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 35 ml oppvarmet
15 vandig fase inneholdende 320 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal tilsettes smelten, og en grovdispersjon fremstilles med ultralydbehandling med sonde. Grovdispersjonen homogeniseres ved passering 10 ganger
20 gjennom en termostatregulert høytrykkshomogenisator ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Dispersjonen av lidokaininnholdende SLP har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse etter fremstilling på 90,4 nm.

25 Eksempel 29: Fremstilling og langtidsstabilitet av SLP inneholdende prednisolon.

I et termostatregulert beger smeltes 4,0 g tripalmitat ved 80°C. 0,48 g lecitin og 80 mg prednisolon dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde. 36 ml oppvarmet
30 vandig fase inneholdende 160 mg natriumglykocolat, 0,9 g glyserol og 4 mg tiomersal tilsettes til smelten, og en

grovdispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde. Grovdispersjonen homogeniseres ved å passere 10 ganger gjennom en termostatregulert høytrykks-homogenisator ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Dispersjonen av prednisolon-inneholdende SLP har en gjennomsnittlig partikkelstørrelse etter fremstilling på 118,3 nm. Etter 12 måneders lagring er den gjennomsnittlige partikkelstørrelse bestemt ved PCS 124,2 nm. Utfelling av medikamentsubstans under lagring blir ikke påvist makroskopisk. Undersøkelser av dispersjonen med polarisert lysmikroskopi over den overvåkede periode på 12 måneder viser ikke tilstedeværelse av medikamentkrystaller.

Eksempel 30: Fremstilling av SLP inneholdende kortison.

15 Fire forskjellige typer SLP inneholdende kortison fremstilles. Disse SLP er utformet som oppsummert i tabell 7. Alle dispersjoner inneholder 2,25 % glyserol og 0,01% tiomersal.

Porsjon 1 og 2 fremstilles ved å dispergere lecitin i den smeltede matrisebestanddel som beskrevet tidligere. I denne smelte oppløses kortison. Etter tilsetning av den vandige fase inneholdende natriumglykocolat, glyserol og tiomersal, fremstilles en grovdispersjon ved ultralydbehandling med sonde. Dette blir overført til en termostatregulert homogenisator (APV Micron Lab 40) og passert 10 ganger gjennom homogenisatoren. Dispersjonene får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Porsjon 3 fremstilles ved å dispergere lecitin i den smeltede matrisebestanddel som beskrevet tidligere. I denne smelte oppløses kortison. Etter tilsetning av den vandige fase inneholdende poloksamer (Pluronic F68), glyserol og tiomersal, fremstilles en grovdispersjon ved ultralydbehandling med sonde. Dette overføres til en termostatregu-

lert homogenisator (APV Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

- 5 Porsjon 4 fremstilles ved å dispergere lecitin i den smeltede matrisebestanddel som beskrevet tidligere. I denne smelte oppløses kortison. Etter tilsetning av den vandige fase inneholdende tyloksapol, glyserol og tiomersal fremstilles en grovdispersjon ved ultralyd-behandling med sonde. Den overføres til en termostatregulert homogenisator (APV Micron Lab 40) og passerer gjennom homogenisatoren 5 ganger
10 ved et trykk på 1200 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Tabell 7: Kortison-inneholdende tripalmitat SLP.

Porsj. nr.	Sammensetning	Gj.snittl part.stør
1	10% TP, 1,2% PL, 0,4% SGC, 0,2% Cort	124,2 nm
2	3% TP, 1,8% PL, 0,6% SGC, 0,3% Cort	67,3 nm
3	10% TP, 4,5% Plu, 3% PL, 0,1% Cort	70,5 nm
4	3% TP, 1,5% Tyl, 1% PL, 0,1 Cort	48,5 nm

- 15 Forkortelser: TP = tripalmitet, PL = fosfolipider, SGC = natriumglykochoalat, Cort = Kortison, Plu = Pluronic F68, Tyl = Tyloksapol.

Eksempel 31: Tripalmitat-SLP inneholdende retinol (vitamin A).

- 20 I et termostatregulert beger smeltes 1,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 80°C. 60 mg retinol (vitamin A-alkohol >99%, Fluka) oppløses i smelten. 300 mg soyabønnelecitin (Lipoid S 100) dispergeres i smelten ved ultralyd-behandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar.
25 450 mg poloksamer 407 (Pluronic® F127, BASF) oppløses i 29,0 g dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes

til 80°C og tilsettes smelten. En fin dispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i 20 minutter. Dispersjonen filtreres gjennom et 0,2 µm sprøytefilter for å fjerne metall utsendt fra ultralydsonden. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse pr. antall etter fremstilling av vitamin A-inneholdende tripalmitat SLP er 98,5 nm bestemt ved PCS.

Eksempel 32: Tripalmitat SLP inneholdende ftylmenadion (vitamin K₃).

I et termostatregulert beger smeltes 1,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 80°C. 60 mg ftylmenadion (vitamin K₃, Sigma) og 300 mg soyabønnelecitin (Lipoid S 100) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 450 mg poloksamer 407 (Pluronic® F127, BASF) oppløses i 28,7 g dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 80°C og tilsettes smelten. En fin dispersjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i 20 minutter. Dispersjonen filtreres gjennom et 0,2 µm sprøytefilter for å fjerne metall utgitt fra ultralydsonden. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling. Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse pr. antall etter fremstilling av vitamin K₃-inneholdende tripalmitat-SLP er 86,8 nm, bestemt ved PCS.

Eksempel 33: Fremstilling av tripalmitat SLP inneholdende estramustin.

I et termostatregulert beger smeltes 7,0 g tripalmitat (Dynasan 116, Hüls AG) ved 80°C. I smelten oppløses 1,68 g soyabønnelecitin (Lipoid S 100) ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 40 mg estramustin oppløses i tripalmitat/leditindispersjonen. 0,42 g natriumglykocolat og 1,58 g glyserol oppløses i 60 g

dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 80°C og tilsettes smelten. En grovemulsjon fremstilles ved ultralydbehandling med sonde i omkring 2 minutter. Grovemulsjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Eksempel 34: Fysisk tilstand av forskjellige SLP ved kroppstemperatur.

- 10 To porsjoner SLP fra forskjellige matrisebestanddeler fremstilles i henhold til metoden bestekrevet i eksempel 2. Porsjon 1 består 10% tripalmitat, 0,5% ubidecardenon, 1,2% soyabønnelecitin (Lipoid S 100, Lipoid KG), 0,4% natriumglykocolat, 2,25% glyserol, 0,01% tiomersal og dobbeltdestillert vann til 100% (pr. vekt). Porsjon 2 består av 10% hardt fett (Witepsol® W35, Hüls AG), 0,5% ubidecardenon, 1,2% soyabønnelecitin (Lipoid S100, Lipoid KG), 0,4% natriumglykocolat, 2,25% glyserol, 0,01% tiomersal og dobbeltdestillert vann til 100% (pr. vekt).
- 20 Den fysiske tilstand av matrisebestanddelene bestemmes ved røntgenstrålediffraksjon ved synkrotron bestråling ved 20°C og ved 38°C. Prøvene plasseres i termostatregulerte prøveholdere. Diffraksjonsmønstrene nedtegnes i 180 sekunder hvert. Figur 15a viser at ved romtemperatur (20°C) er begge posisjoner av SLP krystallinske. Avstandene tilsvarende d-krystallinske polymorfer. Ved kroppstemperatur er tripalmitat-SLP fremdeles krystallinsk, mens ingen refleksjoner kan bli påvist for hardt fett, dvs. de er amorfe og smeltede (fig. 15b). De forskjellige fysiske tilstander for disse SLP ved kroppstemperatur gir opphav til en forskjellig biofarmasøytisk oppførsel med hensyn til frigjøring av inkorporerte medikamenter eller bioaktive midler. SLP smeltet ved kroppstemperatur oppviser grunnleggende de frigjøringskarakteristika som er typiske for konvensjonelle

lipidemulsjoner. Grunnet den frie diffusjon av medikamentmolekyler i det flytende lipid kan medikamentet bli frigjort fra bærematerialet relativt raskt. I motsetning til dette gir faste lipidpartikler som er faste ved kroppstemperatur opphav til vedvarende frigjøring av inkorporert medikament. Siden medikamentmolekylene er immobilisert i den faste matrise, er medikamentfrigjøring ikke diffusjonskontrollert, men avhenger av nedbrytningen av den faste lipidmatrise i kroppen, og er følgelig forsinket.

10 Eksempel 35: Fremstilling av PBA fra miconazol.

I et termostatregulert beger smeltes 0,4 g miconazol ved 90°C. 0,24 g lecitin (Lipoid S100) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 0,9 g glyserol, 80 mg natriumglykocolat og 4 mg tiomersal oppløses i 38,5 ml dobbeltdestillert vann og oppvarmes til 90°C. Den vandige fase tilsettes til miconazol/lecitinsmelten og en grovdispersjon dannes ved ultralydbehandling med sonde i 5 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron 40) og passerer 10 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. PBA-dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Ved avkjøling rekrystalliserer det smeltede miconazol og danner en suspensjon av miconazol-mikropartikler. Den gjennomsnittlige størrelse (pr. volum) av miconazol PBA er 21,8 µm bestemt ved laser-difraktometri. Sedimentet av miconazol PBA er lett redispergerbart ved forsiktig omrøring.

Eksempel 36: Fremstilling av PBA fra ibuprofen.

I et termostatregulert beger smeltes 1,2 g ibuprofen ved 85°C. 0,72 g lecitin (Lipoid S100) dispergeres i smelten ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 0,9 g glyserol, 240 mg natriumglykocolat og 4

ng tiomersal oppløses i 37 ml dobbeltdestillert vann og oppvarmes til 85°C. Den vandige fase tilsettes ibuprofen/-lecitinsmelten og en grovdispersjon dannes ved ultralyd-behandling med sonde i 5 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 6 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 800 bar. PBA-dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Ved avkjøling rekrystalliserer det smeltede ibuprofen og danner en suspensjon av ibuprofen mikropartikler. Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse (pr. volum) av ibuprofen PBA er 61,4 µm, bestemt ved laserdiffraktometri. Sedimentet av ibuprofen PBA er lett redispergerbart ved forsiktig omrøring.

15 Eksempel 37: Oppløsningshastighet av ibuprofen PBA.

Oppløsningshastigheten av ibuprofen PBA fra eksempel 36 måles i et laser-difraktometer (Malvern Mastersizer MS20) ved å overvåke nedbrytningen av den såkalte obskurasjon over en periode på 10 minutter. Obskurasjonen er et mål på den reduserte intensitet av ikke-spredt laserlys fra en prøve og relatert til konsentrasjonen av partikler i laserstrålen. I parallell kan partikkelstørrelsen bli målt. For måling fortynnes ibuprofen PBA-prøven med vann og dispergeres ved magnetisk omrøring i en målecelle plassert i laserstrålelinjen. Figur 16 viser nedbrytningen av obskurasjon og partikkelstørrelse i en prøve av ibuprofen PBA. Innen 10 min har obskurasjonen blitt brutt ned til 0, dvs. det finnes ingen påviselig mengde av partikler, noe som antyder fullstendig oppløsning av PBA. Oppløsningen av den ubehandlede råsubstans ibuprofen kan ikke måles med denne teknikk, da substansen kun er dårlig fuktbar i vann.

Eksempel 38: Fremstilling av PBA fra lidokain.

I et termostatregulert beger smeltes 1,2 g lidokain ved 80°C, 1,2 g tyloksapol oppløses i 37,6 ml dobbeltdestillert vann og oppvarmes til 80°C. Den vandige fase tilsettes lidokainsmelten og en grovdispersjon dannes ved ultralyd-
5 behandling med sonde i 2 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. PBA-dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

10 Ved avkjøling rekrystalliserer det smeltede lidokain til fine nåler og danner en suspensjon av lidokain mikropartikler. Figur 17 viser et polarisert mikroskopisk bilde av de suspenderte lidokainnåler. Partikkelformen av lidokainbasen i råmaterialet (Synopharm) er forskjellig fra den for
15 lidokain PBA som vist ved det polariserte mikroskopiske bilde ifølge figur 18.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse (pr. volum) av lidokain PBA er 174,2 µm, bestemt ved laser-diffraktometri. Den maksimale påviste partikkelstørrelse er 400 µm. Sedi-
20 mentet av liocain-PBA er lett redispergerbart ved forsiktig omrøring. Tilsetning av vann til PBA fører til rask oppløsning av partiklene. I motsetning til dette er råmaterialidokainet kun dårlig oppløselig i vann, og oppløsningshastigheten er mye lavere. Den høye oppløsningshastighet av
25 lidokain-PBA er en følge av de modifiserte overflateegenskaper og den findispergerte tilstand av partiklene. Grunnet den raske oppløsning er en betemmelse av oppløsningshastigheten i henhold til metoden beskrevet i eksempel 37 ikke mulig.

30 Eksempel 39: Fremstilling av PBA fra cholekalsiferol (vitamin D₃).

I et termostatregulert beger smeltes 0,8 g cholekalsiferol ved 95°C 120 mg søyabønnelecitin (Lipoid S 100) dispergeres

i smelten ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 40 mg natriumglykocholat og 0,9 g glyserol oppløses i 37,92 ml dobbeltdestillert vann og oppvarmes til 95°C. Den vandige fase tilsettes cholekalsiferol/lecitin-dispersjonen, og en grovdispersjon dannes ved ultralydbehandling med sonde i 5 minutter. Grovdispersjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron 40) og passerer 8 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. PBA-dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Den gjennomsnittlige partikkelstørrelse etter fremstilling pr. antall av cholekalsiferol-PBA er 325,1 nm bestemt med PCS.

Eksempel 40: Fremstilling av PBA fra estramustin.

I et termostatregulert beger smeltes 2 g estramustin ved 105°C. I smelten dispergeres 0,8 g soyabønnelecitin (lipoid S 100) ved ultralydbehandling med sonde inntil dispersjonen synes optisk klar. 0,2 g natriumglykocholat og 0,9 g glyserol oppløses i 36,1 g dobbeltdestillert vann. Den vandige fase oppvarmes til 95°C og tilsettes smelten. En grovemulsjon fremtilles ved ultralydbehandling med sonde i omtrent 5 minutter. Grovemulsjonen overføres til en termostatregulert høytrykkshomogenisator (APV Gaulin Micron Lab 40) og passerer 5 ganger gjennom homogenisatoren ved et trykk på 1200 bar. Dispersjonen får stå ved romtemperatur til avkjøling.

Tekst til figurene

Fig. 1 Transmisjons-elektronmikrograf av faste lipidpartikler (SLP) av tripalmitat fra eksempel 1 etter 5 måneders lagring ved romtemperatur. Søylene representerer 400 nm.

- Fig. 2 Differensialscanning kalorimetrisk (DSC) termogram av a) rent tripalmitat og av b) tripalmitat SLP fra eksempel 1. Overgangstoppene tilsvare smeltingen av den β -krystallinske polymorf.
- 5 Fig. 3 Synkrotronbestr ling vidvinkel r tgendiffraksjonsm nster av tripalmitat SLP fra eksempel 2. Refleksjonene tilsvare den β -krystallinske polymorf.
- 10 Fig. 4 Transmisjons-elektronmikrograf av ustabile harde fett-SLP fra eksempel 5. SLP-dispersjonen gelatiniserte ved lagring ved å danne et tredimensjonalt nettverk. Søylen tilsvare 1000 nm.
- 15 Fig. 5 Partikkelstørrelsesfordeling av tripalmitat SLP fra eksempel 1 etter 15 måneders lagring. Kurven representerer resultatet av en multivinkel PCS-måling.
- Fig. 6 PCS partikkelstørrelsesfordeling av en 10% tripalmitat SLP-dispersjon sammenlignet med den for den kommersielle lipidemulsjon intralipid® 10%.
- 20 Fig. 7 Innvirkning av mikrofluidiseringstid på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av hardfett-SLP fra eksempel 3.
- Fig. 8 Stabilitet ved lagring av hardfett-SLP fra eksempel 3 som indikert ved utviklingen av den gjennomsnittlige partikkelstørrelse med lagringstid (overvåket periode: 12 måneder). Innvirkning av homogeniseringstrykk på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av tripalmitat-SLP.
- 25 Fig. 10 Innvirkning av antallet homogeniseringspassasjer på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av
- 30

tripalmitat-SLP (ingen 0 tilsvarer grovdispersjonen fremstilt ved ultralydbehandling).

- 5 Fig. 11 Innvirkning av ultralydbehandlingstid på gjennomsnittlig partikkelstørrelse av tripalmitat-SLP fremstilt ved ultralydbehandling med sonde.
- Fig. 12 Innvirkning av type og mengde emulgator på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av tripalmitat-SLP fremstilt i henhold til eksempel 13.
- 10 Fig. 13 Effekt av gallesalter som ko-emulgator på den gjennomsnittlige partikkelstørrelse av forskjellige fosfolipidstabiliserte SLP-dispersjoner fra eksempel 14.
- Fig. 14 Partikkelstørrelsesfordeling av trimyristat-SLP i eksempel 15 som bestemt ved laserdiffraktometri.
- 15 Fig. 15 Fysisk tilstand av forskjellige medikamentinneholdende SLP a) ved 20°C og b) ved 38°C bestemt med synkrotron bestråling vidvinkel røntgenstrålediffraksjon.
- 20 Fig. 16 Oppløsningshastighet av ibuprofen PBA fra eksempel 37.
- Fig. 17 Polarisert mikroskopisk bilde av lidokain-PBA fra eksempel 38 (forstørrelse: 150 x).
- 25 Fig. 18 Polarisert mikroskopisk bilde av lidocain-råmaterialet anvendt for fremstillingen av lidokain-PBA (forstørrelse 150 x). PBA: partikler av bioaktive midler.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte ved emulgering av uoppløselige eller dårlig oppløselige materialer som er faste ved romtemperatur,

5 k a r a k t e r i s e r t v e d a t d e f ø l g e n d e t r i n n u t f ø r e s :

a. det faste materiale eller en blanding av faste materialer smeltes,

10 b. et dispersjonsmedium oppvarmes til omtrent samme temperatur som det smeltede faste materiale eller blandingen av faste materialer,

15 c. en eller flere høyt mobile vannoppløselige eller dispergerbare stabilisator(er) som danner/ikke danner en separat fase i dispersjonsmediet, tilsettes dispersjonsmediet på en slik måte at mengden av høyt mobile stabilisatorer etter emulgering er tilstrekkelig til å stabilisere nydannede overflater under rekrySTALLISERING, eventuelt en eller flere lipidoppløselige eller dispergerbare stabilisatorer tilsettes ytterligere til
20 det smeltede materiale eller blanding av materialer,

25 d. det smeltede materiale eller blanding av materialer og dispersjonsmediet emulgeres i en flytende fase ved høytrykkshomogenisering, ultralydbehandling, høyhastighetsomrøring, virveldannelse og/eller håndristing, fortrinnsvis ved høytrykkshomogenisering,

e. den homogeniserte dispersjon får avkjøles inntil faste partikler dannes ved rekrySTALLISERING av de dispergerede materialer.

30 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t d e n h o m o g e n i s e r t e

dispersjon passerer gjennom et filter før avkjøling til under rekrySTALLISERINGSTEMPERATUREN for å fjerne partikulære forurensninger på en slik måte at filterporestørrelsen er valgt stor nok til ikke å holde tilbake partiklene av emulgerte smeltede materialer.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, karakterisert ved at materialet eller blandingen av materialer er et lipid/lipider, fortrinnsvis med smeltepunkter mellom omkring 30°C og 120°C, fortrinnsvis bestående av mono-, di- og triglysrider av langkjedede fettsyrer, hydrogenerte vegetabiliske oljer, fettsyrer og deres estere, fettalkoholer og deres estere og etere; naturlige eller syntetiske vokstyper, så som bivoks og carnaubavoks; voksalkoholer og deres estere, steroler så som kolestereol og dets estere, harde parafiner eller blandinger av de ovenfor nevnte lipider.

4. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, karakterisert ved at materialet eller blandingen av materialer er et bioaktivt middel/bioaktive middel eller medikament(er) som fortrinnsvis viser en lav biotilgjengelighet og/eller som blir dårlig absorbert fra tarmene, med smeltepunkter fortrinnsvis under 100°C eller hvis smeltepunkter kan senkes til under 100°C ved tilsetning av adjuvanter, fortrinnsvis bedøvende midler og narkotika så som butanilikain, fomokain, isobutamben, lidokain, risokain, pseudokokain, rpilokain, tetrakain, trimekain, tropakokain og etomidat; anticholinergiske midler så som metixen og profenamin; antipressiver, psykostimulerende midler og nevroleptika, så som alimenazin, binedalin, perazin, klorpromazin, tenpentadiol, fenanisol, mebenazin, metylfenidat, tioridazin, toloksaton og trimipramid; anti-epilektiske midler så som dimetadion og nicetamid; antimycotiske midler så som butoconazol, klorfenesin, etisazol, eksalamid, precilosin og miconasol; antiflogistika så som butibufen og ibuprofen; bronkodilatorer så som bamifyl-

lin, kardiovaskulære medikamenter så som alprenolol, butobendin, klordiazol, heksoendin, nikofibrat, penbytolol, pirmenol, prenylamin, prokainamid, proparylnitrat, suloctidil, toliprolol, xidbendol og viquidil; cytostatika så som
 5 asperlin, klorambucil, mitotan, estramustin, taxol, penklo-
 medin og trofosfamid; hyperemiske medikamenter så som
 capsaisin og metylnikotinat; lipiderduserende midler så som
 nikoklonat, oksprenolol, pirifibrat, simfibrat og tiadenol;
 spasmolytika så som aminopromazin, karonerine, difemerin,
 10 fenkarbamid, tiropramid og moxaverin; testosteronderivater,
 så som tetosteron enantat og testosteron-(4-metylpenta-
 noat); bero-ligende midler så som azaperon og buramat;
 virustatika så som arildom; vitamin A-derivater så som
 retinol, retinolacetat og retinolpalmitat; vitamin E-deri-
 15 vater så som tokoferolacetat, tokoferolsuccinat og tokofe-
 rolnikotinat; mendion; kolekalsiferol,; insekticider,
 pesticider og herbicider, så som acefat, cyflutrin, azin-
 fosfometyl, cypermetrin, substituerte fenyltiofosfater,
 fenklofos, prmetrin, piperonal, tetrametrin og/eller
 20 trifluralin.

5. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav,
 k a r a k t e r i s e r t v e d at overflatekarakteris-
 tikaene av partiklene modifiseres etter homogenisering for
 å kontrollere biofordelingen av partiklene, fortrinnsvis
 25 ved absorpsjon av polymerer eller ved dialyse av vannopplø-
 selige surfaktanter.

6. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav,
 k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonen under
 avkjøling omrøres, så som ved hjelp av en magnetisk rører.

30 7. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav,
 k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonsmediet er
 en farmakologisk akseptabel væske som ikke oppløser materi-
 alet eller blandingen av materialer, spesielt vann, etanol,
 propylenglykol, dimetylsulfoksyd (DMSO) eller metylisobu-

tylketon, eller en blanding derav, fortrinnsvis vann.

8. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at stabilisatoren(e) er amfifatisk(e) forbindelse(r), spesielt ioniske og ikke-
5 ioniske surfaktanter, fortrinnsvis naturlig forekommende så vel som syntetiske fosfolipider, deres hydrogenerte derivater og blandinger derav, sfingolipider og glykosfingolipider; fysiologiske gallesalter, så som natriumchololat, natriumdehydrochololat, natriumdeoksychololat, natriumglykocho-
10 lat og natriumtaurochololat; mettede og umettede fettsyrer eller fettalkoholer, etoksylerede fettsyrer eller fettalkoholer samt deres estere og etere; alkylaryl-polyeteralkoholer så som tyloksapol; ester og etere av sukkerer eller sukkeralkoholer med fettsyrer eller fettalkoholer; acetyl-
15 erte eller etoksylerede mono- og diglyserider; syntetiske bionedbrytbare polymerer som blokk-kopolymerer av polyoksyetylen- og polyoksypropylenoksyd; etoksylerede sorbitanestere eller sorbitanetere; aminosyrer, polypeptider og proteiner så som gelatin og albumin; eller en kombinasjon
20 av to eller flere av de ovennevnte stabilisatorer.

9. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at stabilisatoren eller stabilisatorene er en kombinasjon av fosfolipider og gallesalter.

- 25 10. Fremgangsmåte ifølge krav 9, k a r a k t e r i s e r t v e d at det molare forhold mellom fosfolipider og gallesalter er 2:1 eller over.

11. Fremgangsmåte ifølge ethvert av kravene 1-8, k a r a k t e r i s e r t v e d at stabilisatoren eller
30 stabilisatorene er en kombinasjon av fosfolipider og natriumglykochololat i et molart forhold mellom 2:1 og 4:1.

12. Fremgangsmåte ifølge ethvert av kravene 9-11,

k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonsmediet inneholder isotonisitettsmidler, fortrinnsvis glyserol og/- eller kryobeskyttende midler, fortrinnsvis sukkere eller sukkeralkoholer.

- 5 13. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonsmediet inneholder ett eller flere av de følgende additiver: vannoppløselige eller dispergerbare stabilisatorer; isotonisitettsmidler, fortrinnsvis glyserol eller xylitol; kryobeskyttende midler, fortrinnsvis sukrose, glukose, maltose
- 10 eller trehalose; elektrolytter; buffere; antiflokkulanter, fortrinnsvis natriumsitrat, natriumpyrofosfat eller natriumdodecylsulfat og konserveringsmidler.
14. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonen steriliseres fortrinnsvis ved autoklaving eller steril filtrering før avkjøling av dispersjonen til under rekrytalliseringsstemperaturen for de smeltede lipider.
- 15 15. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonsmediet i et påfølgende trinn reduseres i volum fortrinnsvis ved inndamping, eller fjernes ved filtrering, ultrafiltrering eller frysetørking, for således å gi væskefrie partikler som kan bli rekonstituert før bruk.
- 20 16. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) fremstilt ifølge ethvert av kravene 1-3 og 5-15, k a r a k t e r i s e r t v e d at SLP er lipider som har smeltepunkter mellom omkring 30°C og 120°C, fortrinnsvis bestående av mono-, di- og triglyserider av langkjedede
- 30 fettsyrer; hydrogenerte vegetabiliske oljer; fettsyrer og deres estere; fettalkoholer og deres estere og etere; naturlige eller syntetiske vokstyper så som biboks og carnaubavoks; voksalkoholer og deres estere, steroler så som

kolesterol og dets estere, harde parafiner eller blandinger av de ovennevnte lipider.

17. Suspensjon av kolloidale faste partikler (SLP) ifølge krav 16,

5 k a r a k t e r i s e r t v e d at partiklene er stabilisert med en kombinasjon av fosfolipider og gallesalter.

18. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) ifølge krav 17,

10 k a r a k t e r i s e r t v e d at det molare forhold mellom fosfolipider og gallesalter er 2:1 eller mer.

19. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) ifølge krav 16,

15 k a r a k t e r i s e r t v e d at partiklene er stabilisert med en kombinasjon av fosfolipider og natriumglykocolat i et molart forhold mellom 2:1 og 4:1.

20. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) ifølge ethvert av kravene 17-19,

20 k a r a k t e r i s e r t v e d at dispersjonsmediet inneholder isotonisitetsmidler, fortrinnsvis glyserol og/eller kryobeskyttende midler, fortrinnsvis sukkerer eller sukkeralkoholer.

21. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) ifølge ethvert av kravene 16-20,

25 k a r a k t e r i s e r t v e d at SLP er av ikke-a-lignene krystallinsk modifikasjon ved en temperatur under smeltetemperaturen.

22. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) ifølge ethvert av kravene 16-21,

30 k a r a k t e r i s e r t v e d at SLP er av en ikke-sfærisk form ved en temperaur under smeltetemperaturen.

23. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) i henhold til ethvert av kravene 16-22, karakterisert ved at partiklene er av mikron eller sub-mikronstørrelse, i hovedsak i størrelsesområdet fra 20 til 500 nm.

24. Suspensjon av kolloidale faste lipidpartikler (SLP) i henhold til ethvert av kravene 16-23, karakterisert ved at det inne i SLP er innesluttet medikamenter eller bioaktive forbindelser som fortrinnsvis er dårlig vannoppløselige, som viser en lav biotilgjengelighet, blir dårlig absorbert fra tarm og/eller vil bli raskt nedbrutt ved kjemiske eller enzymatiske prosesser i biologiske omgivelser.

25. Suspensjon av kolloidale faste partikler (SLP) ifølge krav 24, karakterisert ved at de innesluttede medikamenter fortrinnsvis er antibiotika så som fosfomycin, fosmidomycin og rifapentin; antihypertensive midler slik som minoxidil, dihydroergotoksin og endralazin; antihypotensive midler så som dihydroergotamin, systemiske antimykotiske midler så som ketoconazol og griseofulvin; antiflogistiske midler, så som indomethacin, diklofenac, ibuprofen, ketoprofen og piroprofen; antivirale midler så som aciclovir, vidarabin og immunoglobuliner; ACE inhibitorer, så som kaptopril og enalapril; betablokkere så som propranolol, atenolol, metoprolol, pindolol, oksprenolol og labetalol. Bronchodilatorer, så som ipratropiumbromid og sobrerol; kalsiumantagonister så som diltiazem, lunarizin, verapamil, nifedipin, nimodipin og nitrendipin; hjerteglykosider så som digotoksin, digoksin, metyldigoksin og acet-yldigoksin; cefalosporiner så som ceftizoxim, cefaleksim, cefalotin og cefotaksim; cytostatika så som klormetin, cyklofosamid, klorambucil, cytarabin, vinkristin, mitomycin C, doksorubicin, bleomycin, cisplatin, taksol, penklo-medin og estramustin; hypnotiske midler så

som flurazepam, nitrazepam og lorazepam; psykotropiske medikamenter så som oksazepam, diazepam og bromazepam, steroide hormoner, så som cortison, hydrocortison, prednison, prednisolon, deksametason, progesteron, pregnanolon, 5 testosteron og testosteronundecanoat; vasodilatorer, så som molsidomin, hydralazin og dihydralazin; cerebrale vasodilatorer, så som dihydroergotoksin, ciklonikat og vincamin; lipofile vitaminer, så som vitamin A, D, E, K samt deres derivater.

- 10 26. Suspensjon av partikler av bioaktive midler (PBA) fremstilt ifølge ethvert av kravene 1, 2 og 4-15, k a r a k t e r i s e r t v e d a t PBA er medikamenter som viser en lav biotilgjengelighet og/eller som blir 15 dårlig absorbert fra tarmen, med smeltepunkter fortrinnsvis under 100°C eller hvis smeltepunkter kan bli senket til under 100°C ved tilsetning av adjuvanter, spesielt bedøven- de midler og narkotika, så som anestetika og narkotika så som butanilikain, fomokain, isobutamben, lidokain, riso- 20 kain, prilokain, pseudokokain, tetrakain, trimekain, tropa- kokain og etomidat; anticholinergiske midler så som metik- sen og profenamin; antidepressiva, så som psykostimulerende midler og nevroleptika, slik som alimenazin, binedalin, perazin, klorpromazin, fempentadiol, fenanisol, fluanisol, mebenazin, metylfenidat, tioridazin, toloksaton og tri- 25 mipramin; antiepileptika, så som dimetadion og nicetamid; antimykotiske midler så som butokonazol, klorfenesin, etisazol, eksalamid, pecilocin og mikonazol; antiflo- gistiske midler så som butibufen og ibuprofen; bronchodi- latorer så som bamifyllin; kardiovaskulære medikamenter, så 30 som alprenolol, butobendin, kloridazol, heksobendin, niko- fibrat, penbutolol, pirmenol, prenylamin, prokainamid, propatylnitrat, suloktidil, toliprolol, xibendol og vikvi- dil; cytostatika så som asperlin, klorambucil, klornafha- zin, mitotan, estramustin, taksol, penklomedin og trofosfa- 35 mid; hyperemiske medikamenter så som kapsaicin og metyl- nikotinat; lipidreduserende midler, så som nikoklonat,

oksprenolol, pirifibrat, simfibrat og tiadenol; spasmolytika så som aminopromazin, caronerin, difemerin, fenkarbamid, tiropramid og moksaverin; testosteronderivater så som testosteronenantat og testosteron-(4-metylpentanoat);
5 beroligende midler så som azaperon og buramat; virustatika så som arildon; vitamin A-derivater, så som retinol, retinolacetat og retinolpalmitat; vitamin E-derivater så som tokoferolacetat, tokoferolsuccinat og tokoferolnikotinat; menadion; cholekalsiferol, insekticider, pesticider og
10 herbicider, så som acefat, cyflutrin, azinfosfometyl, cypermetrin, substituerte fenyltiofosfater, fenklofos, permetrin, piperonal, tetrametrin og trifluralin.

27. Suspensjon av partikler av bioaktive midler (PBA) ifølge krav 26 eller fremstilt ifølge ethvert av kravene 4-
15, k a r a k t e r i s e r t v e d at PBA er vannoppløselige ved temperaturen for emulsjonsfremstilling og ikke vil bli gjort oppløselig av overskuddet av stabilisatorer eller danne miceller i seg selv, hvor partikkelstørrelsen av PBA
20 forblir uendret før og etter avkjøling til romtemperatur.

28. Suspensjon av partikler av bioaktive midler (PBA) i henhold til krav 26 eller fremstilt ifølge ethvert av kravene 4-15,
k a r a k t e r i s e r t v e d at PBA er delvis vannoppløselige ved temperaturen for emulsjonsfremstilling og/
25 eller er istand til å danne blandede miceller med overskudd av stabilisatorer og/eller danne miceller i seg selv og føre til en økning av partikkelstørrelse etter avkjøling til romtemperatur grunnet krystallvekst og/eller utfelling
30 av oppløst bioaktivt middel og/eller grunnet massetransport fra mindre til større partikler.

29. Væskefrie partikler, fremstilt ved å fjerne dispersjonsmediet fra en suspensjon i henhold til ethvert av kravene 16-25, fortrinnsvis ved filtrering, ultrafiltrering

eller frysetørking.

30. Væskefrie partikler, fremstilt ved å fjerne disper-
sjonsmediet fra en suspensjon i henhold til ethvert av
kravene 26-28, fortrinnsvis ved filtrering, ultrafiltrering
5 eller frysetørking.

31. Anvendelse av en suspensjon ifølge ethvert av kravene
16-28 eller væskefrie partikler ifølge krav 29 eller 30,
men som ikke inneholder insekticider, pesticider eller
herbicider, til fremstilling av et medikament egnet for
10 terapeutiske formål i et levende menneske- eller dyre-
legeme.

32. Anvendelse av suspensjon ifølge ethvert av kravene 16-
28 eller væskefrie partikler ifølge krav 29 eller 30 ved
fremstilling av et medikamentelt preparat.



FIG. 1

DIFFERENTIAL SCANNING KALORIMETRI

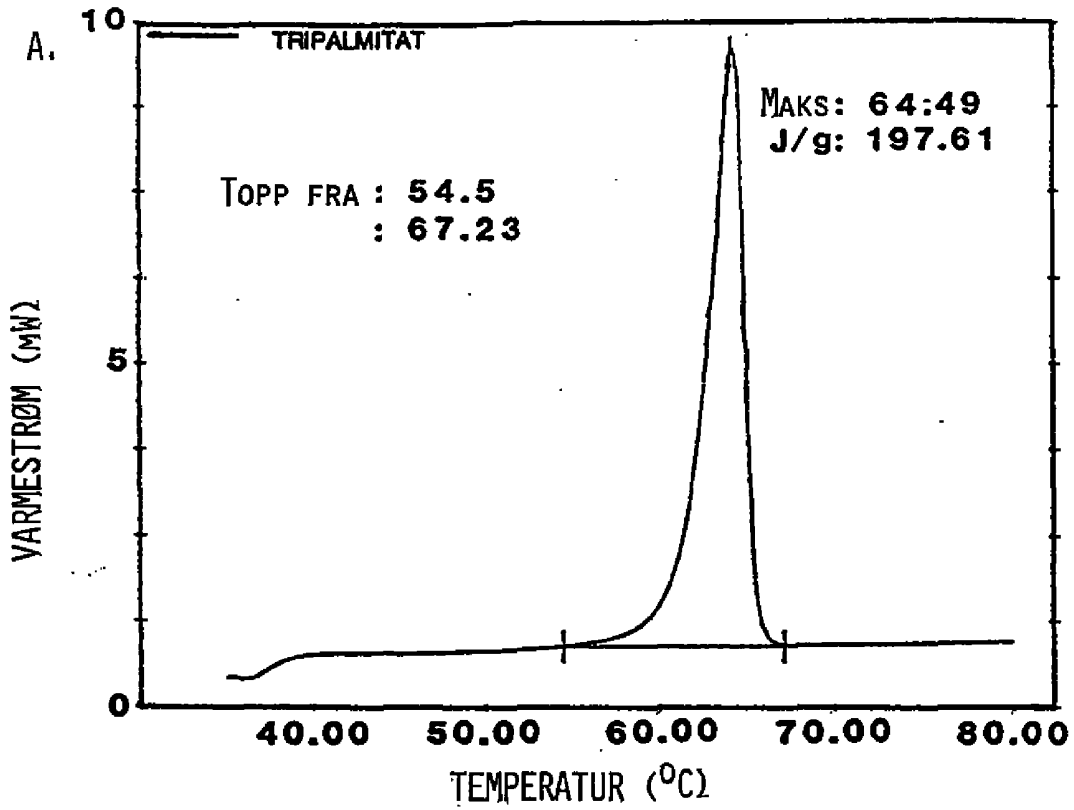
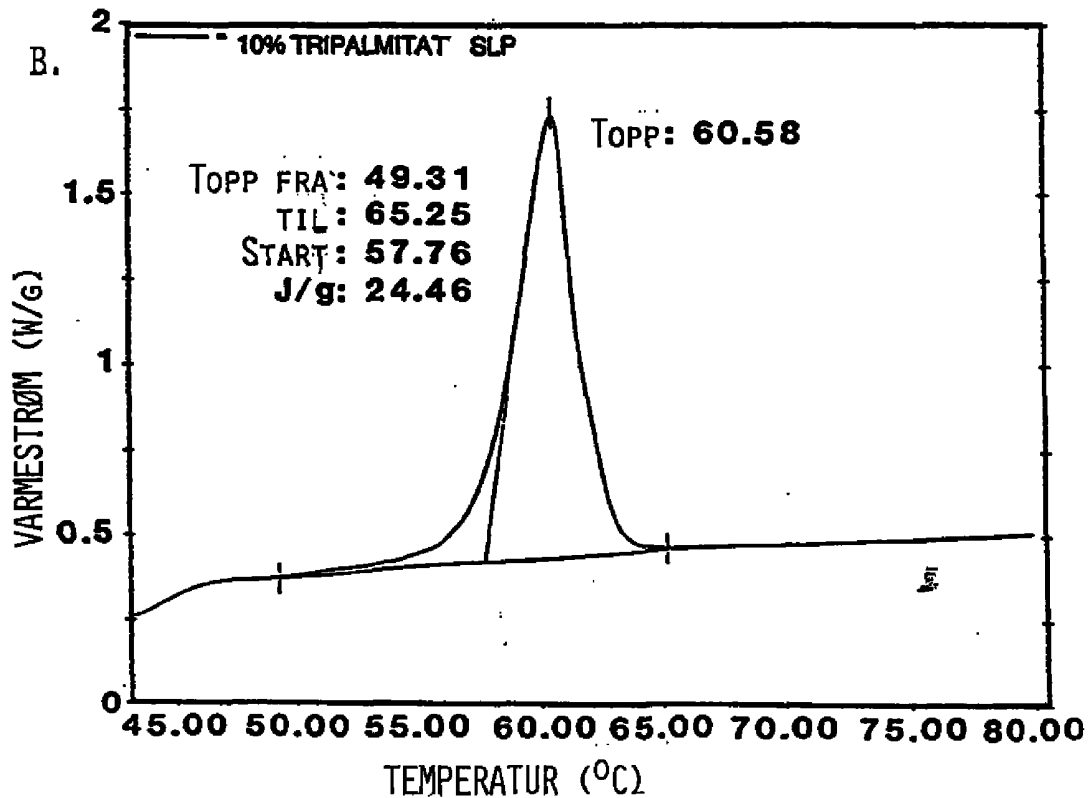


FIG. 2A



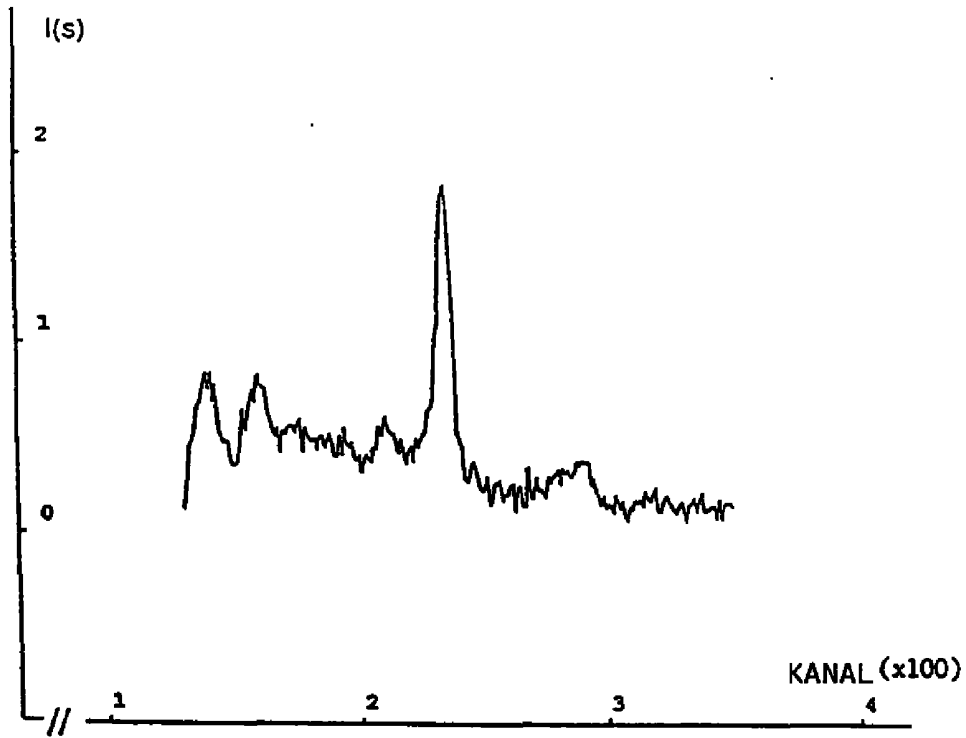


FIG. 3

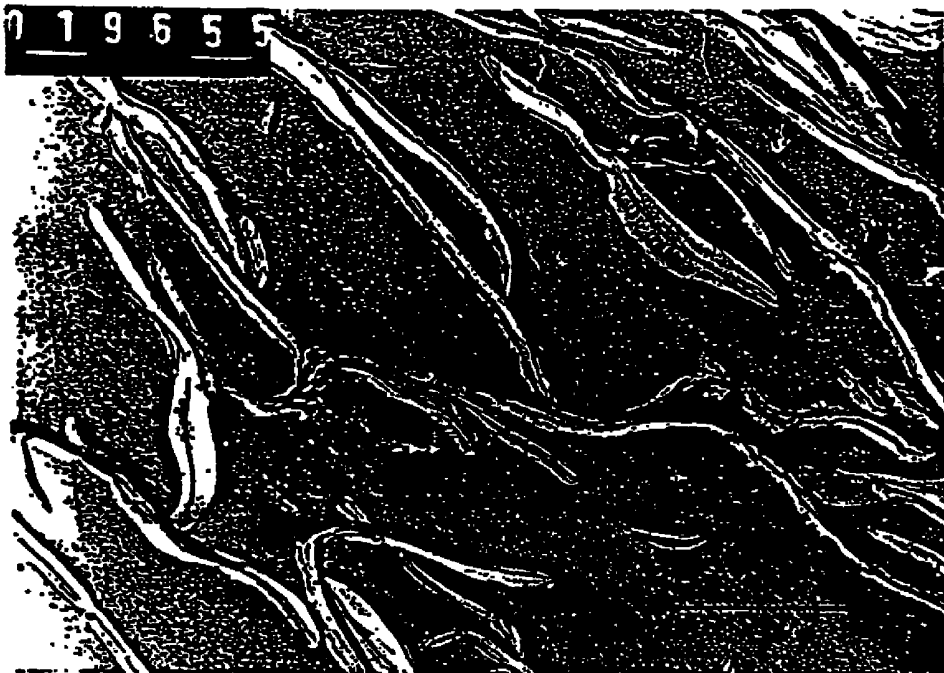


FIG. 4

MALVERN MULTI-VINKEL PCS DATA-ANALYSE

10% TRIPALMITAT SLP-DISPERSJON
VINKLER 50/ 70/ 90/ 110/ 130 GRADER
JOURNAL MI9103MA.MAD

6.75

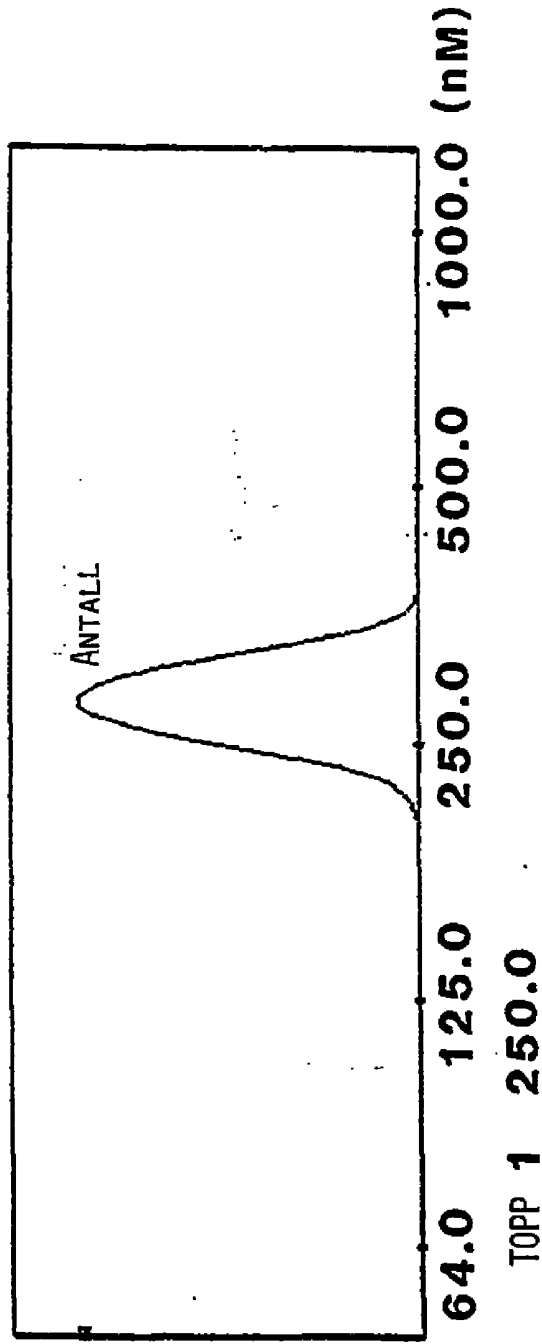


FIG. 5

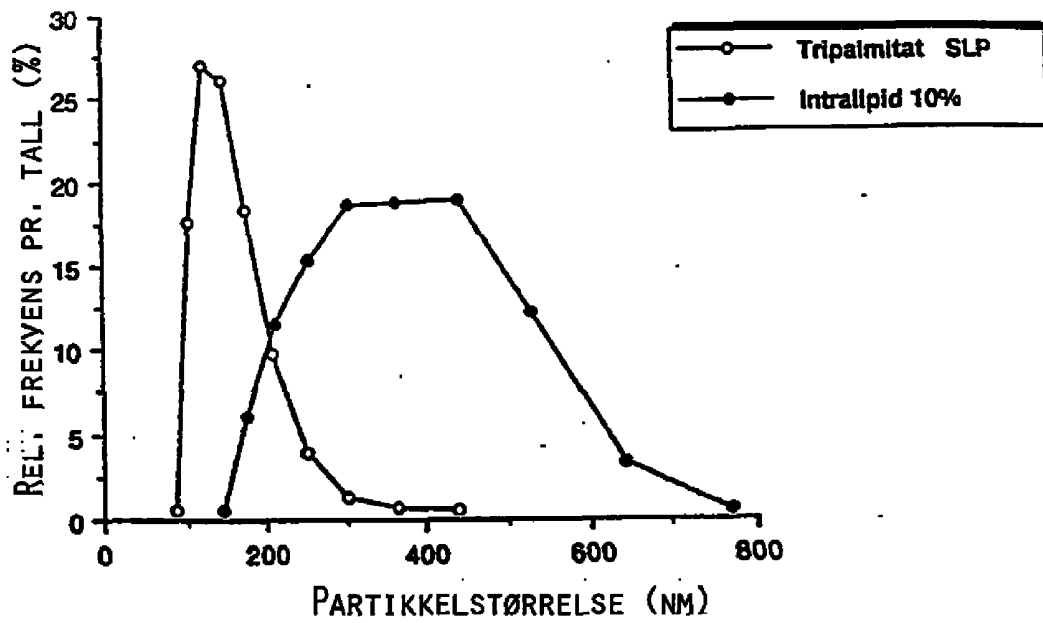


FIG. 6

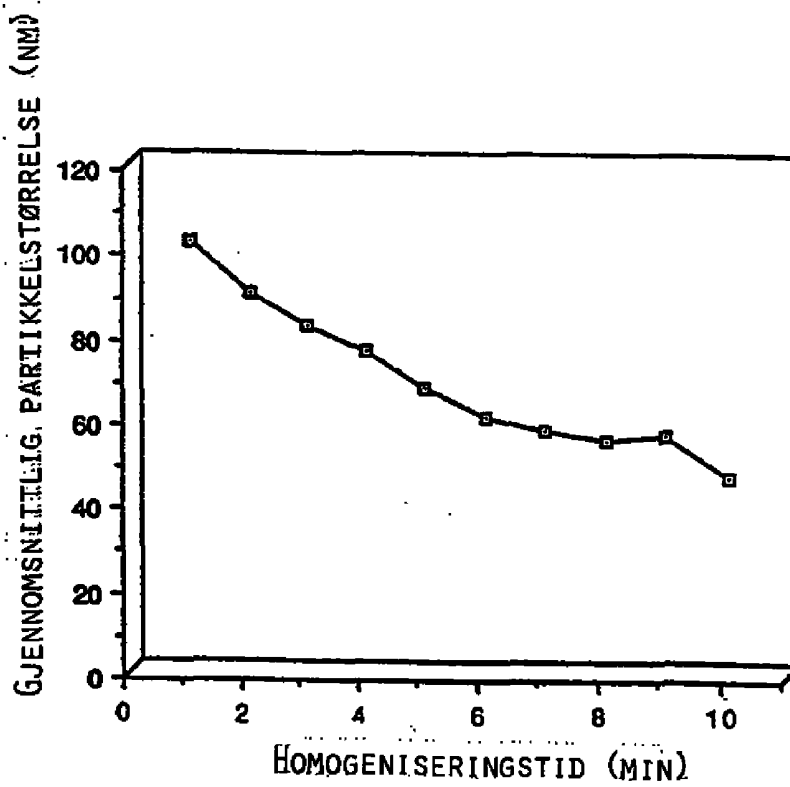


FIG. 7

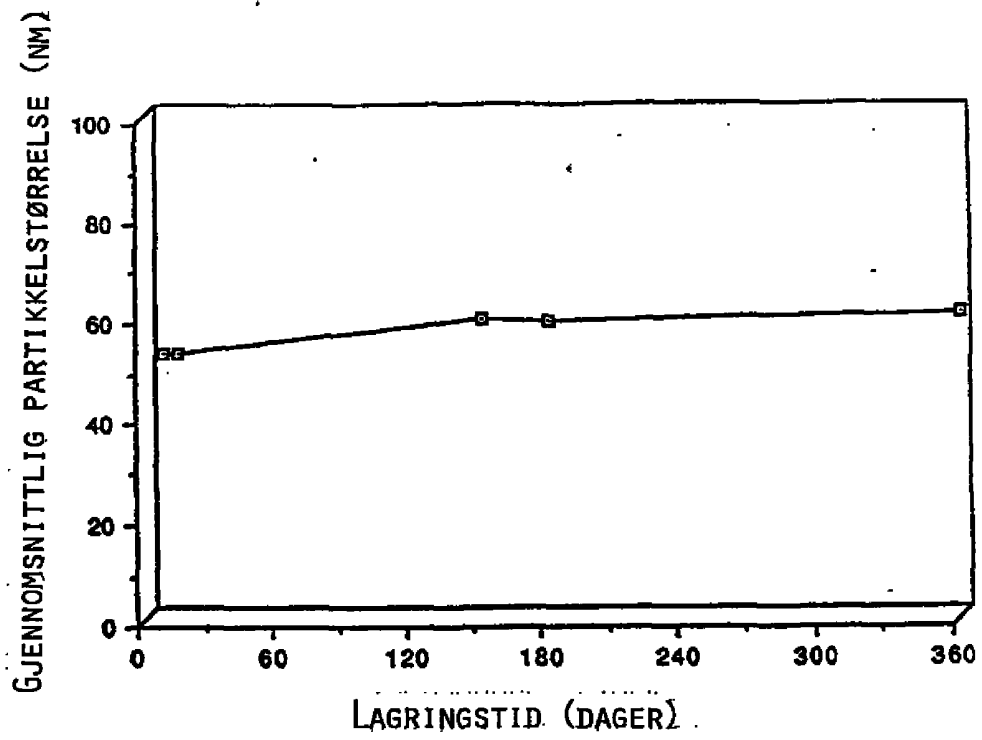


FIG. 8

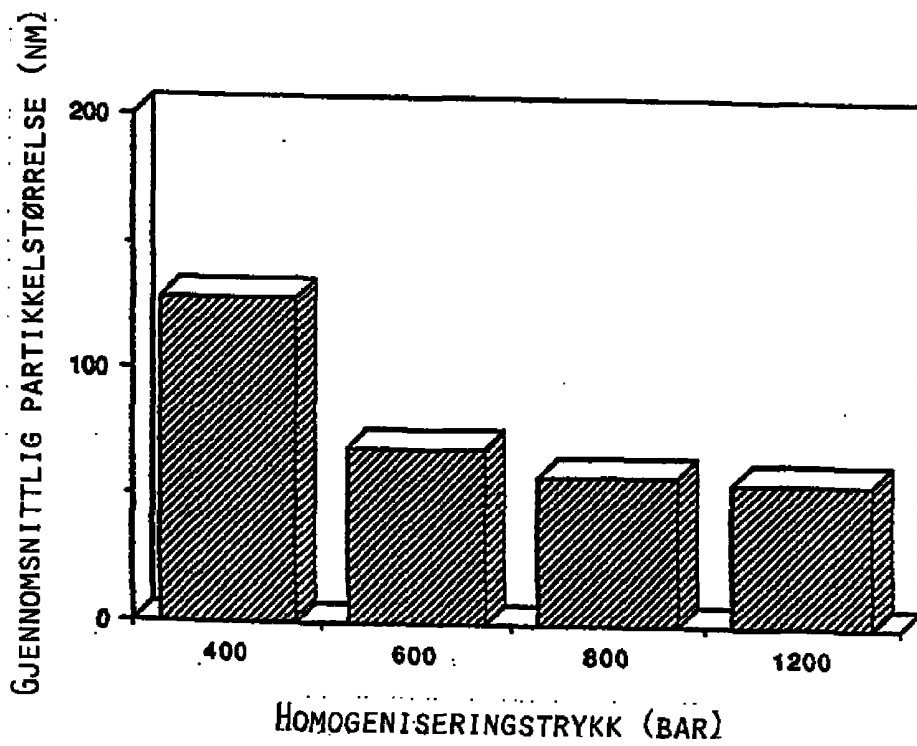


FIG. 9

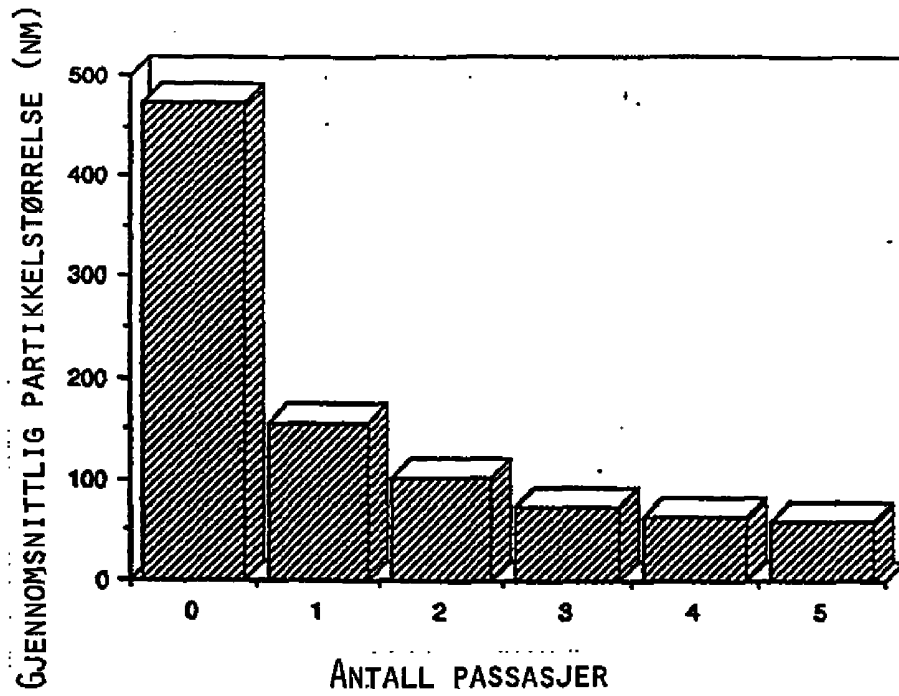


FIG. 10

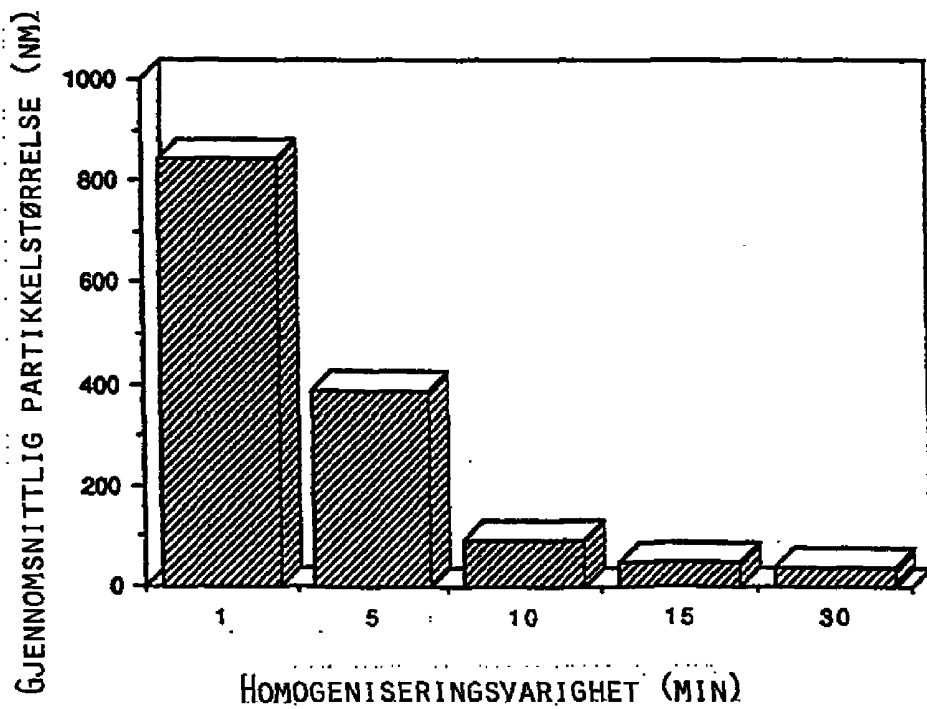


FIG. 11

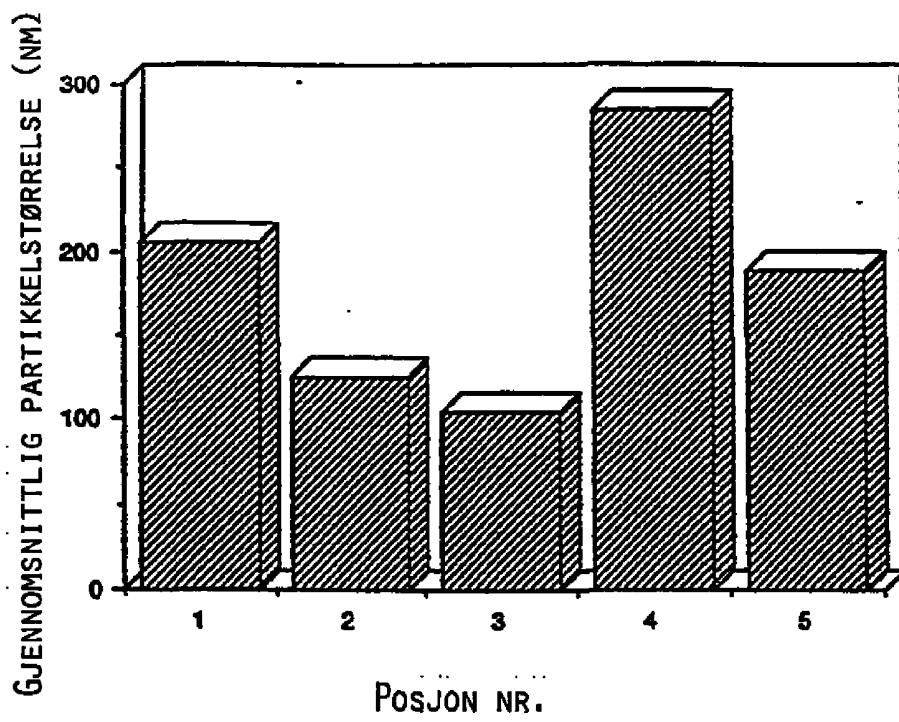


FIG. 12

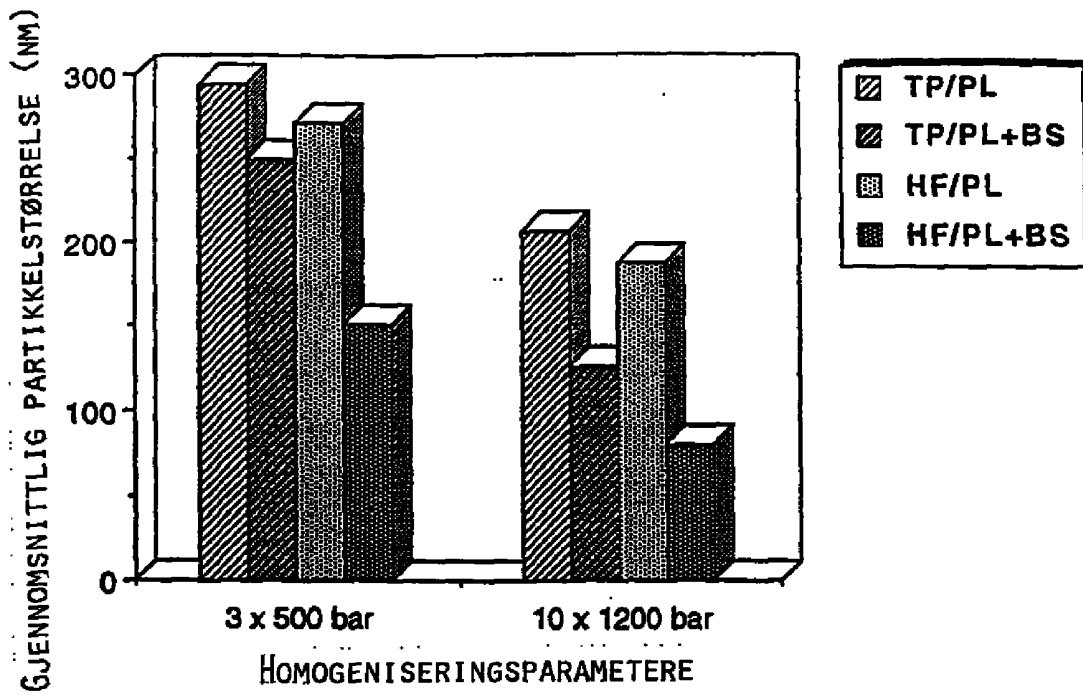


FIG. 13

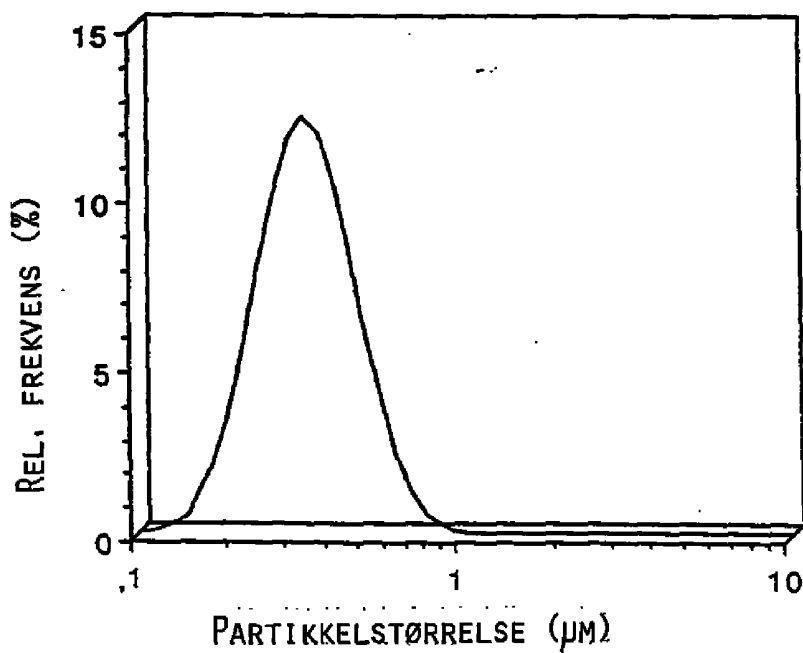


FIG. 14

SYNKROTRON-BESTRALNING VIDVINKEL RØNTGENSTRØLE-DIFFRAKSJON

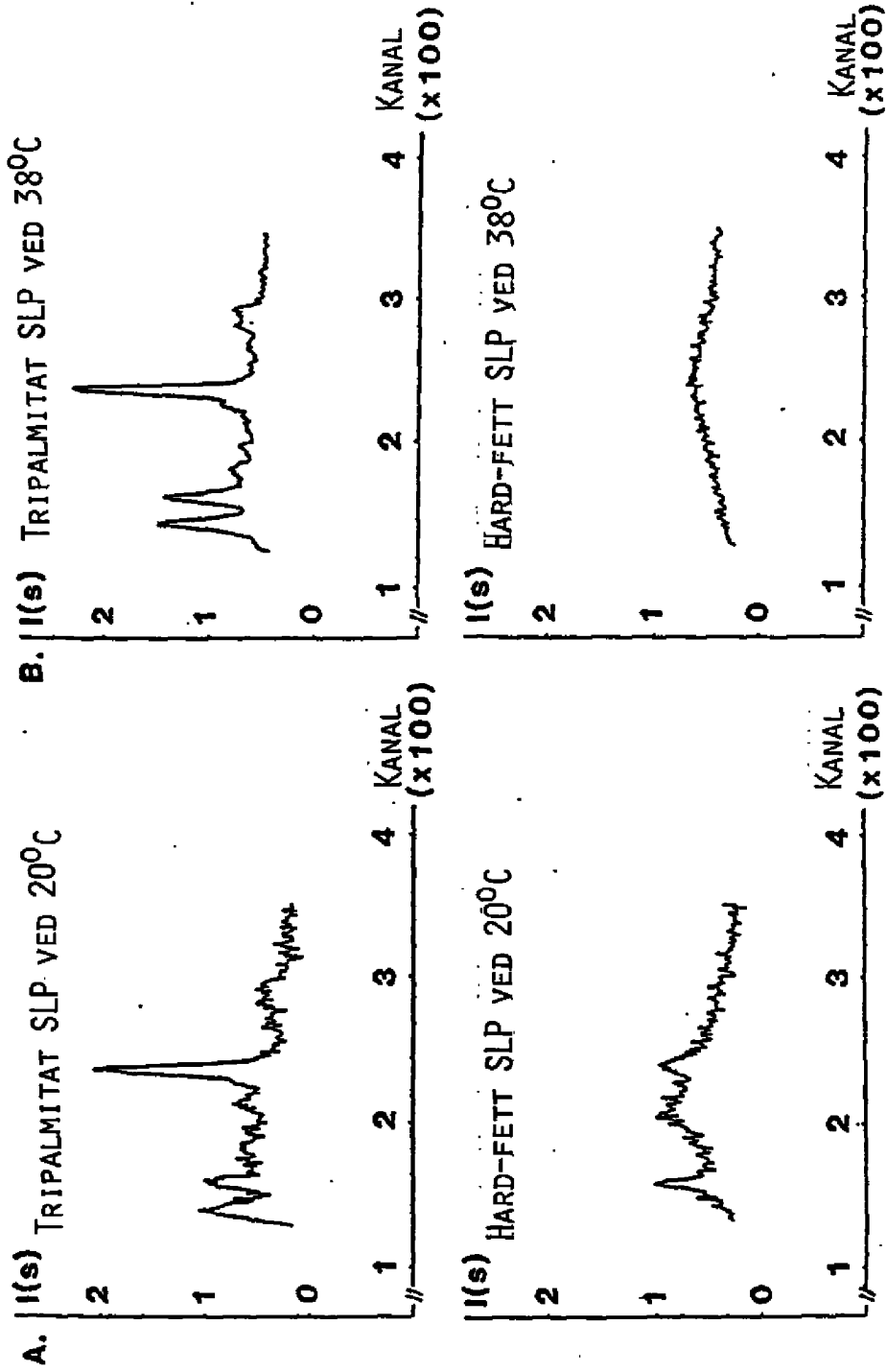


FIG. 15

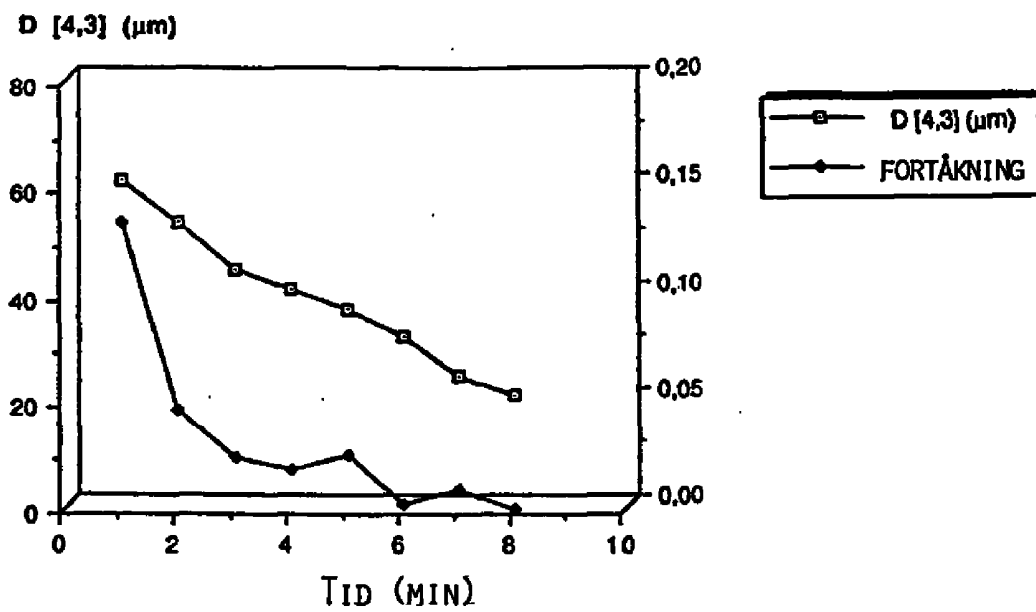


FIG. 16

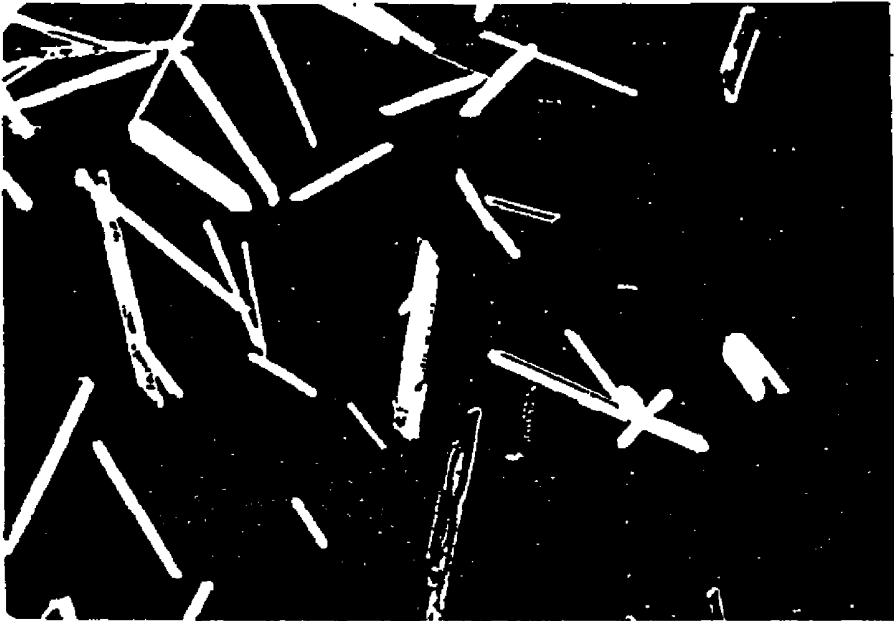


FIG. 17



FIG. 18