



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 88107895.6

[51]Int.Cl⁵

A61K 37/30

[45]授权公告日 1995年1月4日

[24]颁证日 94.8.31

[21]申请号 88107895.6

[22]申请日 88.11.12

[30]优先权

[32]87.11.13[33]IT[31]22647A/87

[73]专利权人 I·S·F股份公司

地址 意大利米兰

[72]发明人 瓦莱里奥·阿利韦蒂

卢恰诺·多里戈蒂

A61K 47/00

泰奥多罗·福尼奥 马利奥·平扎

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 杨 钢 曹恒兴

说明书页数:

附图页数:

[54]发明名称 新的含降血钙素组合物及其制法

[57]摘要

本发明涉及含有降血钙素的新药物组合物和增加通过粘膜吸收降血钙素的新方法。本药物组合物包括一种降血钙素,一种有效量吸收增加剂的甘草酸盐和一种药物上可接受的载体。本方法包括把降血钙素和甘草酸盐组合。所说甘草酸盐是甘草酸铵,其在组合物中的浓度至少为组合物总量的0.1%(W/W)。

权利要求书

1.一种制备适用于跨粘膜传递的药物组合物的方法,该组合物包含一种降血钙素,至少占组合物总量的0.1% (W/W)的一种吸收增加剂甘草酸盐和药物上可接受的载体,该方法包括将降血钙素和甘草酸盐同载体混合。

2.根据权利要求1的方法,其中甘草酸盐为甘草酸铵。

3.根据权利要求1的方法,其中甘草酸盐的浓度为0.5至5% (W/W)。

4.根据权利要求1至3的任一方法,其中降血钙素是类鳙鳊降血钙素。

5.根据权利要求1至3的任一方法,其中降血钙素是鳙鳊降血钙素。

6.根据权利要求1至3的任一方法,其中组合物是以液体或凝胶的形式适用于鼻粘膜使用。

7.根据权利要求6的方法,其中甘草酸盐的存在量是相应于100ml组合物为约2g。

8.根据权利要求1至3的方法,其中组合物的pH范围约4.5至约6。

9.根据权利要求1的方法,其中组合物包括作为载体的一种缓冲至pH约6的盐水溶液,一种无毒有效量的防腐剂,和每100ml组合物为20,000-100,000国际单位的类鳙鳊降血钙素和约2g的甘草酸铵。

10.根据权利要求6的方法,其中包括:在约60℃的水中,将甘草酸盐和任意的赋形剂一起混合,视必要调节pH值,冷却所得溶液至约室温,然后加入降血钙素。

11.根据权利要求1的方法,其中包括把组合物封装成喷雾剂用于给药。

本发明涉及含有降血钙素的新颖药物组合物,以及增加通过粘膜吸收降血钙素的新方法。

降血钙素属可具有药理活性的天然和合成肽类,其含有32个氨基酸并且有调节血清中钙量的功能。

业已众多的降血钙素如包括自然界的人体、鲑和鳙鳊的降血钙素和类似于鳙鳊降血钙素的合成类鳙鳊降血钙素 (elcatonin) 都是商业有售的,并通

常用于治疗例如佩吉特氏病,祖德克氏萎缩病和骨质疏松症。

但对于肽类给药来说,已知值得考虑问题是它们在口服用药时,易感于酸和酶诱发的快速降解。由于这个原因,在遇到施用较大分子量的肽类如降血钙素药物时,人们广泛采用肠胃外给药,因为这种给药是唯一显著有效的形式。

人们普遍认为注射对患者既不方便,又令人不愉快,尤其重复对长期用药需定期间隔一定时间的患者更是如此,例如,用降血钙素治疗经绝后的骨质疏松症。因此,人们对肽类的更容易接受的非侵入交替给药途径越来越感兴趣,例如舌下片剂,栓剂,肺内粉剂,鼻内滴剂,喷雾剂,粉剂,凝胶,软膏和植入物[例见 EP94157 (Takeda), EP173990 (Teijin), US4, 476, 116 (Syntex) 和 GB2, 042, 888 (Teijin)]。

一个值得注意的问题是生物膜如粘膜对许多肽,尤其对那些较大分子量的肽吸收极差,这样常常造成肽的生物有效度非常低。因此进行寻找改进肽类上皮转移吸收方法的研究。一种解决方法是使用辅助剂或吸收增加剂,对具有增加肽吸收性质的化合物要求专利保护已发表许多文献。

例如,曾经提出下列化合物作为吸收增加剂:胆硷酯 (EP214898),酰基肉硷 (EP215697),醛糖和葡糖胺 (日本专利申请号 61 126034),抗坏血酸和水杨酸盐 (EP37943), α -环糊精 (EP0094157),焦谷氨酸酯 (EP173990),螯合剂 (US4, 476, 116) 以及其它各种化合物 (EP183527)。

最近还有人提出用含水聚丙烯酸凝胶硷能改进鼻粘膜对降血钙素,类鳙鳊降血钙素的吸收 (Morimoto 等,国际药理学杂志 37 卷,134-136 页,1985 年)。

曾报导过,甘草成分中的甘草亭酸钠能增加胰岛素的鼻吸收 (Mishima 等人, J. Pharmacobio-Dyn, 10, 8-69 (1987))。然而,该文作者用实验表明,同样用作胰岛素的吸收增加剂,甘草亭酸钠的作用要比癸酸钠来得差。

有众多关于使用表面活性剂增加对多肽吸收的报导,例如 EP115627 (Armour), GB2, 127, 689 (Sandoz), US4, 548, 922 (Carey 等) 和 Hirai 等,国际药理学杂志,第 9 卷,165-184

3

页, 1981 年。

然而, 在使用表面活性剂形式的吸收促进剂时, 一个值得考虑的问题是它们在给药部位引起发炎和组织损坏。关于鼻内给药, 曾有人 (Hirai 等, Supra) 提出能增加吸收的表面活性剂至少部分造成对结构完整的鼻粘膜微扰和紊乱, 也就是说表面活性剂引起的发炎和组织损坏同其增加吸收能力直接相关。

当病人长期定时用肽时, 这种发炎, 组织损坏和患者耐受性差的问题变得非常严重。

从继续探索改进肽吸收方法的高水平来看, 事实表明对含肽类的降血钙素的组合物来说需要一种能产生足够肽血含量 (即有好的生物有效度) 的其它给药途径, 而不采用非肠胃途径给药, 更重要的是能对长期用药病人有好的耐受性。

业已发现甘草亭酸的衍生物 3-(2-0-B-D-glucopyranuronosyl- α -D-glucopyranosiduronic acid) 称作为甘草酸及其盐, 不仅具有促进粘膜对降血钙素吸收的极佳性质, 而且对长期用药的患者, 不会产生其它众多吸收促进剂所引起上面所述的局部毒性问题。

因此本发明首先提供一种增加通过粘膜吸收降血钙素的方法, 本方法包括共同给降血钙素和有效量的吸收增加剂, 即甘草酸盐。

本发明还提供了一种药物组合物, 其包含降血钙素, 有效量的吸收增加剂 (即甘草酸盐) 和药物上可接受的载体。

本发明组合物不仅具有生理耐受性, 其进一步优点还在于甘草酸盐与已知试剂如氯化苯甲烃铵和牛磺胆酸钠相比是更有效的鼻吸收增加剂。

本文所用的甘草酸盐是指甘草酸和其羧酸盐。具体的甘草酸盐为甘草酸铵和硷金属盐, 例如甘草酸钠和甘草酸钾, 其中优选的盐为甘草酸铵。

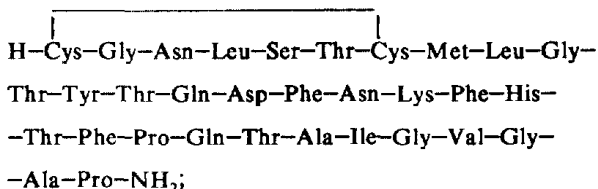
本文所用的降血钙素是批一类具有药理学活性的多肽类, 不仅包括自然存在的降血钙素, 还包括它们的各种衍生物和类似物, 例如其中自然存在的一个或多个氨基酸残基或顺序是省去的, 取代的, 反向的或者被衍生的, 或者 N-或 C-端经改性的类似物。

下文中所用的术语降血钙素是包括全部自然存在的和人工合成降血钙素。

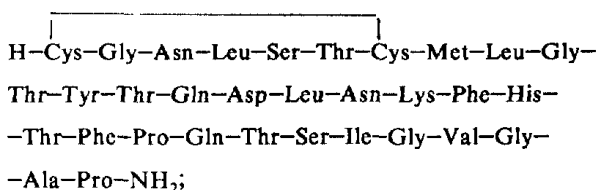
自然存在的降血钙素例子包括: 人体降血钙

4

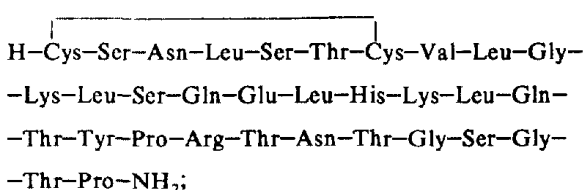
素, 其化学文摘使用登记号 (CAS RN) -21215-62-3 并有下列结构:



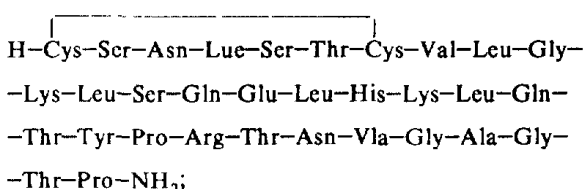
鼠的降血钙素 (CAS RN = 1118-25-5), 结构如下:



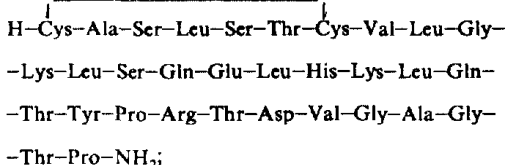
蛙的降血钙素 (CAS RN = 47931-85-1), 结构如下:



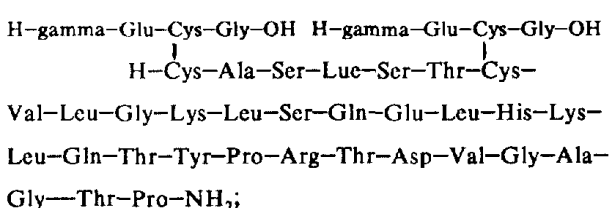
鳗鲡的降血钙素 (CAS RN = 57014-02-5), 结构如下:



还原鸡降血钙素 I (CAS RN = 96157-98-1), 结构如下:



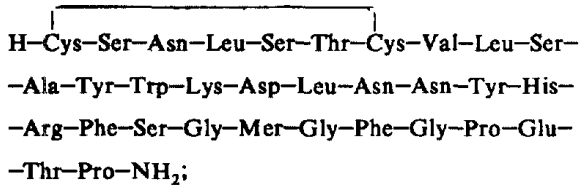
鸡的降血钙素 II (CAS RN = 103468-65-1), 结构如下:



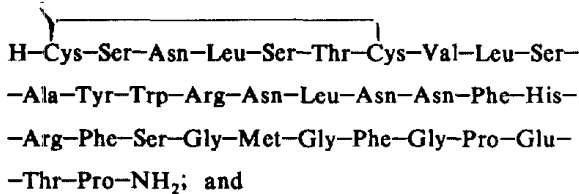
牛的降血钙素 (CAS RN = 26112-29-8), 结

5

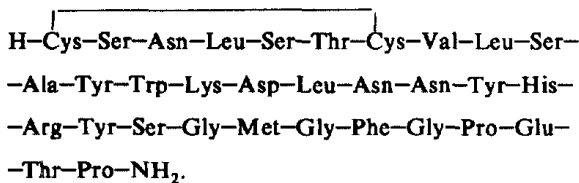
构如下:



猪的降血钙素 (CASRN = 12321-44-7) 结构如下:

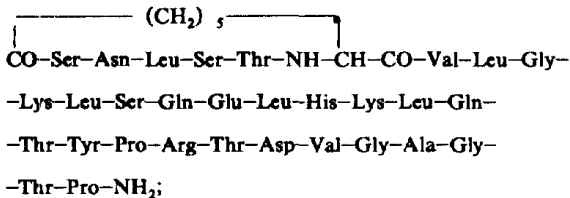


羊的降血钙素 (CAS RN = 40988-57-6), 结构如下:

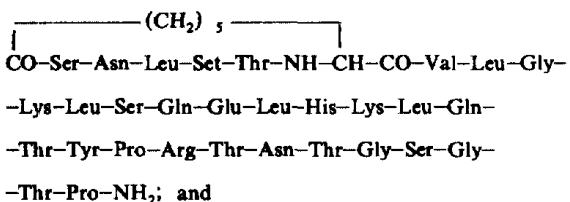


其中省去一个或多个氨基酸的降血钙素的实例有 US4, 597, 900 揭示的 des-[Ser², Tyr²²]-Gly⁸-降血钙素和 US4, 304, 692 描述的 des-[Tyr²²]鲑降血钙素。

其中自然存在的顺序经改性的降血钙素的实例包括 1, 7-二碳-降血钙素, 例如鳊 1, 7-二碳降血钙素 (类鳊降血钙素 (CAS RN = 60731-46-6)), 结构如下:

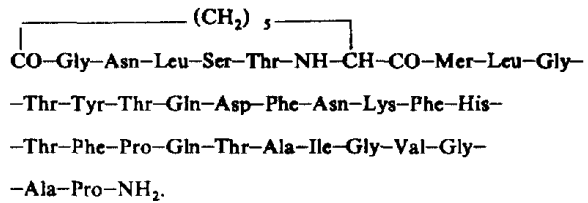


鳊 1, 7-二碳降血钙素 (CAS RN = 60864-37-1), 结构如下:



人体 1, 7-二碳降血钙素 (CAS RN = 66811-56-1), 结构如下:

6



在本发明的内容中, 特别优选的降血钙素是类鳊降血钙素 (CAS RN = 60731-46-6)。关于类鳊降血钙素和相关的 1, 7-二碳降血钙素的制备和性质在英国专利号 1, 516, 947 (Toyo JOZO) 中已有描述。

另一类较佳降血钙素是自然存在的鳊降血钙素 (CAS RN = 57014-02-5)。鳊降血钙素的制备和性质见 US3, 988, 309 (Matsuda 等)。

能采用本领域的已知通过粘膜传递药物活性物质的方法, 能适宜地施用本发明组合物。本组合物能够以下列形式用药, 例如鼻, 舌下, 颊, 直肠, 阴道和结肠粘膜, 并且能制成滴剂, 气溶胶, 片剂, 胶囊, 粉剂, 凝胶, 软膏, 植入剂, 栓剂, 阴道栓剂, 斑和膜的形式。组合物还能制包有肠溶衣的固体口服组合物, 如同 EP127535 (Hadassah Medical Organisation) 中所述。

具体组合物是那些用于鼻膜给药的组合物。

当采用将组合物传递给鼻膜的形式时, 具体的剂量形式为气溶胶, 滴剂, 凝胶和粉剂。典型的气溶胶配方包括活性物质在生理学上可接受含水或无水溶剂中形成的溶液或精细悬浮液, 并且通常以单一或多剂量无菌形式放置在密封容器中。该密封容器能采用供喷雾装置用的药筒或再充填形式, 或采用单元或分散装置形式, 例如单一剂量的鼻吸入器 (见法国专利申请 FR2578426) 或配有测量阀的气溶胶分散器, 以及为一次性药物容器。其中剂量形式包含气溶胶分散剂, 分散剂含有一种推进剂, 它可以是一种压缩气体如压缩空气或一种有机推进剂如氟代氯化烃类。这类气溶胶分散剂是属已知技术的泵-喷雾形式。

将用于分散气溶胶喷雾剂的喷雾或分散装置设计成能分散颗粒大小大于 10 微米。为了确保足够的组合物量同口或鼻粘膜接触而不被吸入, 要求颗粒的合适尺寸约 10-160 微米。

当组合物采用液体喷雾剂形式给药时, 按需

要, 用已知方法调节液体组合物的粘度至可喷雾性。

本配方中所用的溶剂或液体载体优选为含水溶剂, 但也能选用生理上可接受的非水溶剂。非水溶剂或载体的实例有醇, 尤其是多羟基醇如丙二醇和丙三醇, 植物油和矿物油。这类非水溶剂或载体能以各种浓度加到水中制得溶液, 水包油乳状液和油包水乳状液。但优选溶剂为水。

除溶剂或载体外, 本发明的液体配方还能含有赋形剂如抗氧剂, 稳定剂, 防腐剂, 调节粘度和渗透的试剂以及缓冲剂。

配方中使用防腐剂时, 防腐剂的用量应选择为能起到防腐作用而不引起对鼻粘膜造成刺激。这在用于长期给药配方中显得更为重要。例如用于绝经后骨质疏松病的治疗。合适的防腐剂为对羟基苯甲酸烷酯 (parabens) 如对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯。优选的防腐剂是不包括含氯化苯甲羟铵。

用于颊和舌下给药的具体剂量形式为凝胶、悬浮液、片剂、斑剂、粉剂、软膏和溶液。用于阴道和直肠给药的具体剂量形式包括阴道栓剂、栓剂、溶液、泡沫剂、悬浮液, 凝胶, 软膏和片剂。

能按已知的药学操作制得上述的组合物, 例如参见 Remington 的《药学科学》, 第 17 版, Mack 出版公司, 1985 年。

当组合物包肠溶衣和用于口服给药时, 典型的是将其制成包有包衣剂的片剂或胶囊, 使降血钙素通过胃和小肠, 接着在结肠释放出。合适的包衣剂包括阴离子聚合物如丙烯酸/甲基丙烯酸酯的共聚物 (例如 Eudragit S)。

组合物还能含有蛋白酶抑制剂, 较好是非表面活性剂的蛋白酶抑制剂, 例如 EP127535 中所述。

本发明组合物能用于治疗如佩吉特氏病; 骨质疏松病, 祖德克氏萎缩病和各种血钙过多病 (例如参见 Physician's Desk Reference, 第 42 版, 1988 年, 1796 页和 1797 页)。

在用于患者的组合物剂量中含有治疗所患疾病有效量的降血钙素。

在单位剂量的本发明组合物中, 药物活性物质的量按降血钙素的效力和组合物的属性进行变化。但通常对于用于人体的单位剂量来说, 组合物典型含有 5 至 200 国际位 (I.U.) 的降血钙素。类鳗降血钙素的单位剂量优选含有 20 至 100I.U..

术语“国际单位”参考人体, 蛙或猪的降血钙素或类鳗降血钙素的相应国际参考制剂 (International Reference Preparation), 这国际参考制剂 (I. R. P.) 由 National Institute for Biological Standards and Contral, Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire, EN6 3QG, 联合王国, 所建立。

在液体配方, 尤其在喷雾剂配方中, 单位剂量的体积一般为 50-130ml。

本发明组合物的 pH 值是根据其所含不同成份的化学物理性质, 能在一个宽的范围内变化。但通常来说, 组合物合适的 pH 范围是 3 至 8, 尤其是约 pH4.5 至约 pH6。

能使用缓冲剂维持一个具体的 pH 值。

通常甘草酸盐吸收增加剂的浓度至少是 0.1% (W/W), 适合的为 0.5-10% (W/W), 优选为组合物总重量的 0.5 至 5% (W/W)。

在液体或凝胶组合物中, 每 100ml 组合物中含有 0.5g 至 5g 的甘草酸盐量较合适, 优选是 100ml 组合物中含有约 2g 的甘草酸盐。

对于含水组合物来说, 最终的药物形式例如液体溶液或凝胶将取决于溶液的 pH 值, 离子强度和甘草酸盐的浓度。通常来说, 组合物的 pH 约为 5.5 时, 上说形式将呈液体, 而 pH 值较低的组合物却趋向于变粘, 当其 pH 约为 4.5 时将呈凝胶形式。

下面实施例将更详细描述本发明。

实施例 1-9 (表 1 见文后)

实施例 1-9 的配方按如下制备, 将甘草酸盐, 柠檬酸, 二水柠檬酸钠, 对羟基苯甲酸甲酯, 对羟基苯甲酸丙酯, 蒸馏水和氢氧化钠在调节到约 60℃ 温度的水浴中进行混合。冷却所得溶液至室温, 然后加入类鳗降血钙素。

实施例 8 和 9 的配方为凝胶

实施例 10

精确称量 1415mcg 类鳗降血钙素 (6500I.U./mg 效力), 溶入到有下列组份构成的 100ml 载体中:

-吸收增加剂: 1g 甘草盐铵;

-缓冲组分: 200mg 乙酸和 200mg 三水乙酸钠;

-防腐剂: 130mg 对羟基苯甲酸甲酯和 20mg 对羟基苯甲酸丙酯;

-蒸馏水加至 100ml;

-INHCl 调节载体的 pH 值为 3.5.

在温度调节在约 60℃ 的水浴中进行载体的制备。然后冷却所得凝胶至室温, 再加入活性组分。

实施例 11

精确称量 1670mcg 鲑降血钙素 (5500I.U. / mg 效力), 溶入到由下列组份构成的 100ml 载体中:

-吸收增加剂: 2g 甘草酸铵;

-缓冲组分: 37mg 柠檬酸和 463mg 二水柠檬酸钠;

-防腐剂: 130mg 对羟基苯甲酸甲酯和 20mg 对羟基苯甲酸丙酯;

-蒸馏水加至 100ml;

-加 IN NaOH 调节载体的 pH 至 6.

在温度调节至约 60℃ 的水浴中进行载体的制备。冷却所得溶液至室温, 然后加入活性组分。

实施例 12

精确称量 1840mcg 鳗降血钙素 (5000I.U. / mg 效力), 溶解到下列组份组成的 100ml 载体中:

-吸收增加剂: 甘草酸铵 2g;

-缓冲组分: 37mg 柠檬酸和 463mg 二水柠檬酸钠;

-防腐剂: 130mg 对羟基苯甲酸甲酯和 20mg 对羟基苯甲酸丙酯;

-蒸馏水加至 100ml;

-用 IN NaOH 调节载体的 pH 至 6.

在温度调节至约 60℃ 的水浴中制备载体。冷却所得溶液至室温, 然后加入活性组分。

实施例 13 和 14

按实施例 1 至 9 的方法制备下列组合物。

表 2

	实施例号	
	13	14
类鳗降血钙素(mcg)	7380	3690
(6500I.U. / mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
蒸馏水	加至 100ml	
IN NaOH	调节至 pH6	

实施例 15

试验 A

含有 2% 吸收增加剂的甘草酸铵的实施例 2 制剂与下列制剂进行药效活性, 即降低血清中钙浓度的对照试验:

除不含甘草酸铵外, 类鳗降血钙素浓度和赋形剂相同的配方 (对照制剂 A);

含相同浓度的类鳗降血钙素, 作为赋形剂 0.01% 的氯化苯甲羟铵和柠檬酸盐的配方 (对照制剂 B);

含有相同浓度的类鳗降血钙素, 1% 牛磺胆酸钠, 0.15% parabens 和柠檬酸的配方 (对照制剂 C)。

对体重为 160 ± 10 g 的 Sprague Dawley 雄鼠编组, 每组 10 只, 此鼠用一根小导管经鼻内将体积 10ml 的各个制剂给药。全组禁食, 在接受类鳗降血钙素前, 用 2% 三溴乙醇 (TBE) (0.9ml / 100g 体重, 腹膜内给药) 麻醉 15 分钟。在给产物后的 60 分钟和 120 分钟时, 从每个动物的眼眶处收集血样进行血清钙浓度测定 (用原子吸收分光光度计 VARIAN30 / 40 测定)。

从未经治疗, 但同样经禁食和麻醉的动物上于上面相同时间测得基础值。

结果列于下表 3 中。

表 3

	给药剂量 IU. / kg	同基础值相比在血清中的钙降低百分数	
		1h	2h
实施例 2 的本发明制剂	4	18.1	21.3
对照制剂 A	4	12.8	4.5
对照制剂 B	4	14.1	5.2
对照制剂 C	4	15.5	15.8

试验 B

含有 1% 甘草酸铵为吸收增加剂的实施例 1 制剂与下列制剂进行药效活性, 即降低血清中钙浓度的对照试验:

除不含有甘草酸铵外, 类鳗降血钙素浓度和赋形剂相同的配方 (对照制剂 A);

含相同浓度类鳗降血钙素, 作为赋形剂的 0.01% 氯化苯甲羟铵和柠檬酸盐的配方 (对照制剂 B)。

按试验 A 相同方法进行。

所得结果列于下表 4 中。

11

表 4

	给药剂量 IU./kg	同基础值相比所得血清的钙降低百分数	
		1h	2h
实施例 1 的 本发明制剂	4	15.6	13.3
对照制剂 A	4	12.0	3.6
对照制剂 B	4	13.5	2.3

试验 C

含有 5% 甘草酸铵为吸收增加剂的实施例 3 制剂与下列制剂进行药效活性即降低血清中钙浓度的对照试验。

除不含甘草酸铵，类鳗降血钙素浓度和赋形剂相同的配方（对照制剂 A）；

含相同浓度类鳗降血钙素，作为赋形剂的 0.01% 氯化苯甲羟铵和柠檬酸盐的配方（对照制剂 B）；

含相同浓度类鳗降血钙素，1% 牛磺胆酸钠，0.15% parabens 和柠檬酸盐（对照制剂 C）。

除取血样时间为治疗后的 60、120 和 240 分钟外，按试验 A 的方法进行操作。

结果列于下表 5 中。

表 5

	给药剂量 IU./kg	同基础值相比所得血清的钙降低百分数		
		1h	2h	4h
实施例 3 的 本发明制剂	4	18.4	21.9	9.0
对照制剂 A	4	10.4	3.5	-0.5
对照制剂 B	4	12.1	5.2	0.7
对照制剂 C	4	14.2	20.4	2.2

实施例 16

试验 D

含有类鳗降血钙素作为活性组份和 2% 甘草酸铵作为吸收增加剂的实施例 13 制剂与下列制剂进行生物有效度即类鳗降血钙素在血清中的动力学试验：

除不含甘草酸铵外，含有类鳗降血钙素浓度相同和赋形剂相同的配方（对照制剂 A）；

含有相同浓度类鳗降血钙素，作为赋形剂的 0.01% 氯化苯甲羟铵和柠檬酸盐的配方（对照制剂 B）。

二只重 10kg 的 Beagle 雄狗经鼻内给上述制剂（用计量原给予 100ml 体积）。二只动物的每个鼻孔接受一次吹气，即总量为 80IU。

给产物后，每隔 5 分钟（直至 60 分钟）收集每只动物的血样（大隐静脉取样），用 RIA 方法测定血清中的类鳗降血钙素浓度。

所得结果列于表 6 中。

12

表 6

	类鳗降血钙素峰收缩和 AVC 值 给药剂量 IU./kg	峰收缩 pg/ml	出峰时间 (分)	AVC 值 分×pg/ml
本发明实施例 13 的制剂	8	515	10	7587
对照制剂 A	8	95	10	1270
对照制剂 B	8	217	20	2869

实施例 17、18 和 19

按实施例 1 至 9 的方法制得下列组合物。

表 7

	实施例号		
	17	18	19
类鳗降血钙素(mcg) (6500IU./mg 效力)	7380	3690	3690
甘草酸铵(g)	0.5	0.5	1
柠檬酸(mg)	37	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20	20
蒸馏水	至 100ml		
1N NaOH	调节 pH 至 6		

实施例 20-25（表 8 见文后）

在温度调节至约 60℃ 的水浴中，将甘草酸铵，柠檬酸，二水柠檬酸钠，对羟基苯甲酸甲酯，对羟基苯甲酸丙酯，氯化钠，多乙氧基醚，蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 20 至 25 的配方。将所得溶液冷却至室温，然后加入类鳗降血钙素。

实施例 26-31（表 9 见文后）

在温度调节至约 60℃ 的水浴中，将甘草酸铵，柠檬酸，二水柠檬酸钠，对羟基苯甲酸甲酯，对羟基苯甲酸丙酯，氯化钠，多乙氧基醚，蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 26 至 31 的配方。将所得溶液冷却至室温，然后加入类鳗降血钙素。

实施例 32-37（表 10 见文后）

在温度调节至约 60℃ 的水浴中，将甘草酸铵，柠檬酸，二水柠檬酸钠，对羟基苯甲酸甲酯，对羟基苯甲酸丙酯，氯化钠，蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 32 至 37 的配方。将所得溶液冷却至室温，然后加入类鳗降血钙素。

实施例 38

试验 E

含有作为活性组份的类鳗降血钙素（分别为 40IU./100ml 和 20IU./100ml）和作为吸收增加剂的 2% 甘草酸铵的实施例 36 和 37 制剂与下列制剂进行生物

13

14

有效度的对照试验(即血清中的类鳗降血钙素动力学试验)。

除不含甘草酸铵外,含有同实施例 36 相同浓度的类鳗降血钙素和相同的赋形剂的配方(对照制剂 A);

除不含甘草酸铵外,含有同实施例 37 相同浓度的类鳗降血钙素和相同赋形剂的配方(对照制剂 B);

含有在等渗乙酸盐缓冲剂的 40IU./ml 类鳗降血钙素,其 pH 为 4.25(对照制剂 C)。

把实施例 36 和 37 的制剂和对照制剂 A 和 B 经鼻内给药(使用计量泵给出 100ml 体积量)于 6 位男性自愿者。自愿者的每个鼻孔接受一次吹气,即对于实施例 36 制剂和对于对照制剂 A 来说,总量为 80IU., 或对于实施例 37 制剂和对照制剂 B 制剂来说为 40IU.

1ml 体积(40IU.)的对照制剂 C 经肌内给药于相同的 6 位男性自愿者,采用交换设计。

经产物后,每隔 5 分钟(从 0 至 60 分钟)收集血样,用放射免疫测定法(RIA)测定血清中的类鳗降血钙素浓度。

结果而于下表 11 中。(表 11 见文后)

实施例 39 和 40

表 12

	实施例号	
	39	40
鳗降血钙素(mcg)	9090	18180
(5500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
氯化钠(mg)	600	600
蒸馏水	加至 100ml	
IN NaOH	调节 pH6	

在温度调节至约 60℃ 的水浴中,将甘草酸铵,柠檬酸,二水柠檬酸钠,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,氯化钠,蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 39 和 40 配方。将所得溶液冷却至室温,然后加入鳗的降血钙素。

实施例 41 和 42

表 13

	实施例号	
	41	42
鳗降血钙素(mcg)	10000	20000
(5000IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
氯化钠(mg)	600	600
蒸馏水	加至 100ml	
IN NaOH	加至 pH6	

在温度调节至约 60℃ 的水浴中,将甘草酸铵,柠檬酸,二水柠檬酸钠,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,氯化钠,蒸馏水和氢氧化钠混合制得实例 41 和 42 的配方。将所得溶液冷却至室温,然后加入鳗的降血钙素。

实施例 43 和 44

表 14

	实施例号	
	43	44
鸡降血钙素 II(mcg)	10000	20000
(5000IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
氯化钠(mg)	600	600
蒸馏水	加至 100ml	
IN NaOH	加至 pH6	

在温度调节至约 60℃ 的水浴中,将甘草酸铵,柠檬酸,二水柠檬酸钠,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯,氯化钠,蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 43 至 44 的配方。将所得溶液冷却至室温,然后加入鸡降血钙素 II。

实施例 45 和 46

表 15

	实施例号	
	45	46
人体降血钙素(mg)	250	500
(200IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
氯化钠(mg)	600	600
蒸馏水	加至 100ml	
IN NaOH	加至 pH6	

15

在温度调节至约 60℃ 的水浴中, 将甘草酸铵, 柠檬酸, 二水柠檬酸钠, 对羟基苯甲酸甲酯, 对羟基苯甲酸丙酯, 氯化钠, 蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 45 和 46 的配方。将所得溶液冷却至室温, 然后加入人体降血钙素。

实施例 47 和 48

表 16

	实施例号	
	47	48
猪降血钙素(mg)	834	1668
(60IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	2	2
柠檬酸(mg)	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20
氯化钠(mg)	600	600
蒸馏水	加至 100ml	
1N NaOH	加至 pH6	

在温度调节至约 60℃ 的水浴中, 将甘草酸铵, 柠檬酸, 二水柠檬酸钠, 对羟基苯甲酸甲酯, 对羟基苯甲酸丙酯, 氯化钠, 蒸馏水和氢氧化钠混合制得实施例 47 和 48 的配方。将所得溶液冷却至室温, 然后加入猪降血钙素。

鼻用粉剂

实施例 49 和 50

表 17

	实施例号	
	49	50
类鳗降血钙素(mg)	3.69	7.38
(6500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	20	20
乳糖加至(g)	25.0	25.0

用类鳗降血钙素水溶液湿润乳糖, 接着经真空干燥制得实施例 49 和 50 的配方。干粉同甘草酸铵混合, 这最终混合物置入硬明胶胶囊 (每粒胶囊为 25mg)。

胶囊刺破后, 使用鼻吹入器吹入粉剂。

16

舌下片剂

实施例 51 和 52

表 18

	实施例号	
	51	52
类鳗降血钙素(mg)	7.7	15.4
(6500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	40	40
蔗糖(g)	35.0	35.0
甘露醇(g)	35.0	35.0
聚乙二醇 6000(g)	10.0	10.0
乳糖加至(g)	120.0	120.0

将蔗糖, 甘露醇和乳糖一起混合制得实施例 51 和 52 的配方。用类鳗降血钙素水溶液湿润所得混合物, 然后通过不锈钢筛制成颗粒并真空干燥。干燥的颗粒同聚乙二醇和甘草酸铵混合, 然后压制成每片为 120mg 的片剂。

颊片剂

实施例 53 和 54

表 19

	实施例号	
	53	54
类鳗降血钙素(mg)	7.7	15.4
(6500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	40	40
蔗糖(g)	30.0	30.0
甘露醇(g)	35.0	35.0
聚乙二醇 6000(g)	15.0	15.0
聚羧乙烯 934(g)	15.0	15.0
乳糖加至(g)	150.0	150.0

将蔗糖, 甘露醇和乳糖一起混合制得实施例 53 和 54 的配方。用类鳗降血钙素的水溶液湿润所得混合

17

物,然后用不锈钢筛制成颗粒并真空干燥。干燥的颗粒同甘草酸铵、聚羧乙烯和聚乙二醇混合,然后压制成每片为150mg的片剂。

结肠途径的口服片剂

实施例 55 和 56

表 20

	实施例号	
	55	56
类鳕降血钙素(mg)	15.4	30.8
(6500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	6.0	6.0
预胶凝淀粉(g)	80.0	80.0
硬脂酸镁(g)	2.0	2.0
乳糖加至(g)	210.0	210.0
Eudragit S(g)	20.0	20.0
聚乙二醇(g)	2.0	2.0

将预胶凝淀粉和乳糖一起混合制得实施例 55 和 56 的配方。用类鳕降血钙素的水溶液湿润所得混合物,经不锈钢筛制成颗粒并真空干燥。干燥的颗粒同甘草酸铵和硬脂酸镁混合,然后压制成每片为210mg的片剂。

片剂用聚乙二醇和二甲胺乙基丙烯酸酯-甲基丙烯酸酯共聚物(Eudragit)的水悬浮液涂包得每片最终重量为232g。

阴道片剂

实施例 57 和 58

表 21

	实施例号	
	57	58
类鳕降血钙素(mg)	15.4	30.8
(6500IU./mg 效力)		
甘草酸铵(g)	8.0	8.0
玉米淀粉(g)	180.0	180.0
己二酸(g)	140.0	110.0
碳酸氢钠(g)	110.0	110.0
硬脂酸镁(g)	20.0	20.0
乳糖加至(g)	1600.0	1600.0

18

将甘草酸铵、玉米淀粉、己二酸和乳糖一起混合制得实施例 57 和 58 的配方,用类鳕降血钙素的水溶液湿润所得混合物,经不锈钢筛制成颗粒并真空干燥。干燥的颗粒同碳酸氢钠和硬脂酸镁混合,然后压制成每片为1.6g的片剂。

表 1

	实施例号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
类鳗降血钙素(mcg)	1415	1415	1415	7380	7380	1415	7380	1415	7380
(6500IU./mg 效力)									
甘草酸铵(g)	1	2	5	1	5	2	2	0.5	0.5
柠檬酸(mg)	37	37	37	37	37	37	37	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463	463	463	463	463	463	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130	130	130	130	—	—	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20	20	20	20	—	—	20	20
蒸馏水	加至 100ml								
1N NaOH(加至 pH)	6	6	6	6	6	6	6	64.5*	4.5*

* 用 0.1N NaOH 调节 pH 至 4.5

表 8

	实施例号					
	20	21	22	23	24	25
类鳗降血钙素(mcg)	7380	3690	7380	3690	7380	3690
(6500IU./mg 效力)						
甘草酸铵(g)	0.5	0.5	1	1	2	2
柠檬酸(mg)	37	37	37	37	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463	463	463	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130	130	130	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20	20	20	20	20
氯化钠(mg)	600	600	600	600	600	600
多乙氧基醚(mg)	5	5	5	5	5	5
蒸馏水	加至 100ml					
1N NaOH	加至 pH6					

表 9

	实施例号					
	26	27	28	29	30	31
类固醇降血钙素(mcg)	7380	3690	7380	3690	7380	3690
(6500IU./mg 效力)						
甘草酸铵(g)	0.5	0.5	1	1	2	2
柠檬酸(mg)	37	37	37	37	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463	463	463	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130	130	130	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20	20	20	20	20
氯化钠(mg)	600	600	600	600	600	600
多乙氧基醚(mg)	10	10	10	10	10	10
蒸馏水	加至 100ml					
1N NaOH	加至 pH6					

表 10

	实施例号					
	32	33	34	35	36	37
类固醇降血钙素(mcg)	7380	3690	7380	3690	7380	3690
(6500IU./mg 效力)						
甘草酸铵(g)	0.5	0.5	1	1	2	2
柠檬酸(mg)	37	37	37	37	37	37
二水柠檬酸钠(mg)	463	463	463	463	463	463
对羟基苯甲酸甲酯(mg)	130	130	130	130	130	130
对羟基苯甲酸丙酯(mg)	20	20	20	20	20	20
氯化钠(mg)	600	600	600	600	600	600
蒸馏水	加至 100ml					
1N NaOH	加至 pH6					

表 11

	类固醇降血钙素平均峰收缩和 AVC 值			
	给药剂量	峰收缩	出峰时间	AVC(平均标准误差)
	IU.	pg/ml	分	差)分×pg/ml
实施例 36 组合物	80	186.3	15.2	3551.2(± 160.1)
实施例 37 组合物	40	92.5	15.1	2301.9(± 170.7)
对照制剂 A	80	57.6	15.6	1270.2(± 135.6)
对照制剂 B	40	27.9	15.1	551.0(± 85.4)
对照制剂 C	40	233.3	20.6	3675.2(± 190.6)