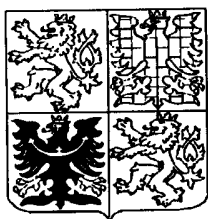


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

- (22) 11.09.92
(32) 11.09.92, 19.09.91
(31) 92GB/9201668, 91/9120005
(33) WO, GB
(40) 16.02.94

(21) 935-93

(13) A3

5(51)

A 61 K 31/685

A 61 K 9/107

A 61 K 9/12

A 61 M 16/00

(71) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, London,
GB;

(72) Davis Craig William, Greenville, N. Carolina, US;
Snyder Rodney Gary, Greenville, N. Carolina, US;

(54) **Způsob přípravy formulace povrchově aktivní
látky pro podávání do plic pacienta**

(57) Je popsán způsob podávání disperze povrchově aktivní látky do plic, který potřebuje takové ošetření. Způsob zahrnuje zahřátí disperze a rozprášení ohřáté disperze za vzniku vdechovatelných částic povrchově aktivní látky. Vdechovatelné částice aktivní látky se dodávají do plic pacienta. Zahřátím disperze vzrůstá množství fosfolipidu dodávaného do plic pacienta. Disperze sestává z fosfolipidu dispergovaného ve vodné nosné látce. Při zvláštním provedení vynálezu je fosfolipidem s výhodou dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC), obsažený v množství od přibližně 8 do 50 mg na ml vodné nosné látky a disperze je s výhodou zahřátá na teplotu od přibližně 25 do 75 °C.

Způsob přípravy formulace povrchově aktivní
~~Způsob podávání dipalmitoylfosfatidylcholinových disperzí~~
léčiv pro podávání do plic pacienta
Oblast techniky

Tento vynález se týká způsobu podávání aerosolových formulací povrchově aktivní látky do plic pacienta.

Dosavadní stav techniky

Syndrom dýchacích potíží (RDS), také označovaný jako choroba blány hyalinové, je hlavní příčinou úmrtí a invalidity mezi nedonošenými dětmi. Z 230 000 až 250 000 dětí, které se narodí jako nedonošené každý rok ve Spojených státech amerických, 40 000 až 50 000 trpí syndromem dýchacích potíží a z těch, u kterých se vyvine tato choroba, 5 000 až 8 000 umírá (obecně viz R. Perelman a P. Farrell, Pediatrics 70, 570 /1982/, D. Vidyasagar v Hyaline Membrane Disease: Pathogenesis and Pathophysiology, 98, vyd. L. Stern /1984/). Kromě toho syndrom dýchacích potíží se může vyskytnout u dětí, dospívajících a dospělých jako výsledek poranění nebo jiného poškození plic. Uvádí se 150 000 případů syndromu dýchacích potíží dospělých (ARDS) ročně, s úmrtností 60 až 80 % (viz Americký plicní program: respirační choroby, Zpráva komise o problémech, úvod do výzkumu a Needs, National Heart and Lung Institute, vyd. DHEW (NIH) 73-432, 165-180 /1972/).

Syndrom dýchacích potíží je zapříčiněn primární nedostatečností plicní povrchově aktivní látky, přičemž materiál je obvykle vylučován na povrchu plicních sklípků. Syndrom dýchacích potíží dospělých zahrnuje druhou nedostatečnost plicní povrchově aktivní látky v důsledku inhibice a/nebo poklesu sekrece povrchově aktivní látky. V nepřítomnosti povrchově aktivní látky mají sklípky sklon ke zhroucení během výdechu. Zhroucení je možné se vyhnout mechanickou ventilací plic. Problémem s mechanickou ventilací však je, že může být

příčinou poškození plic v důsledku vysokých koncentrací kyslíku a přetlaku.

Řada výzkumných skupin usilovala vyvinout formulace povrchově aktivní látky, které by se mohly používat pro ošetřování nebo prevenci syndromu dýchacích potíží a syndromu potíží dospělých. Jak lidské, tak hovězí přírodní povrchově aktivní látky se zaváděly do vzduchových cest člověka jako pacienta (viz například J. Horbar a kol., N. Eng. J. Med. 320, 959 /1989/, R. Soll a kol., Pediatric Res. 23, 425A /1988/). Problémy s takovými přírodními povrchově aktivními látkami však spočívají v možné kontaminaci mikroorganismy a možné citlivosti pacienta k proteinům obsaženým v těchto povrchově aktivních látkách. Proto se vyvíjely zcela syntetické povrchově aktivní látky (viz například Clementsovy US patenty č. 4 826 821 a 4 312 860).

I když vývoj formulací povrchově aktivní látky poskytl alternativu k samotné mechanické ventilaci, kliničtí lékaři nyní čelí obtížnému problému, jak rychle a účinně zavést tyto formulace do plic pacientů. US patent č. 4 832 012 udělený Raabe-mu a Lee, popisuje rozprašovací zařízení, které se může používat k dodávání kapalin obsahujících léčivou látku ve formě aerosolu do plic pacientů. Je navrženo, aby se kapalina mohla zahřívat nebo chladit před rozprašováním (sloupec 4, řádky 47 a 48). Raabe a Lee neurčují problémy týkající se podávání formulací povrchově aktivní látky do plic pacienta. Takovými formulacemi jsou disperze lipidů ve vodném roztoku nosné látky, spíše než jediná fáze roztoku.

Podstata vynálezu

S ohledem na svrchu uvedené údaje, předmět tohoto vynálezu poskytuje pomůcku pro podávání formulací povrchově aktivní látky do plic pacientů ve formě aerosolu.

Tento vynález se týká způsobu přípravy formulace povrchově aktivní látky pro podání do plic pacienta, který potřebuje takové ošetření. Způsob zahrnuje zahřátí disperze na teplotu přibližně od 25 do 90 °C. Disperze sestává z fosfolipidu dispergovaného ve vodné nosné látce. Fosfolipid je obsažen v množství přibližně od 10 do 90 mg na ml vodné nosné látky. Disperze se rozprašuje za vzniku vdechovatelných částic povrchově aktivní látky a získané vdechovatelné částice povrchově aktivní látky se dodávají do plic pacienta. Zahřátím disperze před rozprašováním se zvyšuje množství fosfolipidu zaváděného do plic pacienta.

Tento vynález se také týká formulace povrchově aktivní látky pro použití při vyšetřování plicních chorob, uzpůsobené pro rozprašování vdechovatelných částic, která zahrnuje disperzi fosfolipidu dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC) ve vodné nosné látce, v množství od přibližně do 10 do zhruba 90 mg na ml vodné nosné látky, kde disperze se zahřála na teplotu od přibližně 25 do zhruba 90 °C předtím, než dojde k rozprašení a dodání vdechovatelných částic povrchově aktivní látky do plic pacienta.

Tento vynález se dále týká způsobu ošetřování plicních chorob, který zahrnuje podávání disperze fosfolipidu dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC) ve vodné nosné látce v množství od přibližně 10 do zhruba 90 mg na ml vodné nosné látky, přičemž disperze se zahřívá na teplotu od přibližně 25 do zhruba 90 °C předtím, než se provede rozprašení a dodání vdechovatelných částic povrchově aktivní látky do plic pacienta.

Formulace povrchově aktivní látky používané při provádění tohoto vynálezu mohou být libovolného typu vhodného pro ošetřování syndromu dýchacích potíží a syndromu dýchacích

potíží dospělých buď přírodního (to znamená lidského nebo hovězího) původu (viz například J. Horbar a kol., N. Eng. J. Med. 320, 959 /1989/, R. Soll a kol., Pediatric Res. 23, 425A /1988/), rekombinantního nebo syntetického původu nebo jde o jejich kombinace (viz například Y. Tanaka a kol., J. Lipid Res. 27, č. 2, 475 /1986/, T. Fujiwara a kol., Lancet 1, 55 (12. ledna 1980) (extrakt z plic krávy obohacený dipalmitoylfosfatidylcholinem), US patent č. 4 912 038 Schillinga a kol. (sekvence rekombinantní DNA kodující sklípkové proteiny povrchově aktivní látky)). Zvláště vhodná pro provedení tohoto vynálezu je syntetická povrchově aktivní látka typu popsaneho v US patentu č. 4 826 821 Clementse. (Majitel patentu má zvláště v úmyslu, aby údaje o všech odkazech na patenty citované v uvedeném spisu byly zde zahrnuty do dosavadního stavu techniky.) Pro provedení tohoto vynálezu je také vhodná syntetická povrchově aktivní látka typu popsaneho v US patentu č. 4 312 860 Clementse. Jiná formulace povrchově aktivní látky je komerčně dostupná od firmy Ross Laboratories jako SURVANTA^R, což je přírodní extrakt z hovězích plic obsahující fosfolipidy, neutrální lipidy, mastné kyseliny a proteiny spojené s povrchově aktivní látkou, ke kterým je přidán dipalmitoylfosfatidylcholin, kyselina palmitová a tripalmitin k dosažení standardní jakosti prostředku a k napodobení povrchového napětí snižujícího schopnosti přírodní plicní povrchově aktivní látky. Formulace povrchově aktivní látky se může dostat jako sterilní lyofilizovaný prášek, který se rekonstruuje před použitím, nebo jako kapalina připravená pro použití.

Obecně všechny formulace povrchově aktivní látky obsahují dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC, také označovaný jako kolfoscerilpalmitát), jako fosfolipid ve vodné nosné látce, buď samotný nebo v kombinaci s jinými fosfolipidy, jako je 1-palmitoyl-2-oleoyl-fosfatidylglycerol, dimyristoylfosfatidylcholin, distearoylfosfatidylcholin, dimyristoylfosfatidyl-

etanolamin, dilauroylfosfatidyletanolamin, dimetyldipalmitoylfosfatidylcholin, metyldipalmitoylfosfatidylcholin, dipalmitoylfosfatidylglycerol, fosfatidylcholin, dipalmitoylfosfatidyletanolamin, dilauroylfosfatidylcholin, dioleoylfosfatidylcholin a dibehenoylfosfatidylcholin. Ve formulaci povrchově aktivní látky určené k rozprašování a zavádění do plic je obvykle obsažen dipalmitoylfosfatidylcholin v množstvích od 10 do 90 mg/ml.

Formulace povrchově aktivní látky mají obvykle povrchové napětí menší než $15 \cdot 10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$. Projevuje se sklon dávat přednost nižším povrchovým napětím (například menším než zhruba $10 \cdot 10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$). U formulací povrchově aktivní látky zde popsaných je možné dosáhnout povrchového napětí nižšího než přibližně $1 \cdot 10^{-3}$ až $2 \cdot 10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$ nebo méně.

Formulace povrchově aktivní látky s výhodou zahrnují smáčecí prostředek, jako je alifatický alkohol nebo povrchově aktivní látku plicního proteinu v množství účinném ke smáčení formulace povrchově aktivní látky na povrchu plicního sklípku. Při zvláště výhodném provedení tohoto vynálezu je smáčecím prostředkem cetylalkohol (také označovaný jako hexadekanol). Vodná fáze formulace povrchově aktivní látky je výhodně tvořena fyziologickým roztokem (například roztokem chloridu sodného), protože není správné dráždit povrch plice. Roztoky chloridu sodného mohou být přítomny jako normální fyziologické roztoky (to znamená s obsahem okolo 0,9 % chloridu sodného) nebo výhodněji jako slabě hypotonické roztoky (například s obsahem okolo 0,4 až přibližně 0,9 % chloridu sodného, výhodněji od přibližně 0,4 do zhruba 0,8 % chloridu sodného a zvláště výhodně s obsahem 0,54 % chloridu sodného).

Vhodné formulace povrchově aktivní látky zahrnují povrchově aktivní látku plicního proteinu jako smáčecí

prostředek, jak poznamenáno výše. Například taková formulace se připraví kombinováním apoproteinové povrchové aktivní látky, jako je popsána v US patentu č. 4 912 038, se směsí lipidů, kde směs lipidů zahrnuje dipalmitoylfosfatidylcholin, 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerol (POPG) a kyselinu palmitovou (PA), s poměrem dipalmitoylfosfatidylcholinu k 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu od 50:50 do 90:10, z poměrem součtu dipalmitoylfosfatidylcholinu a 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu (DPPC + POPG) k proteinu povrchové aktivní látky od 50:1 do 5:1 a s poměrem kyseliny palmitové k součtu dipalmitoylfosfatidylcholinu a 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu od 0 do 0,2. Další nenasycené kyselé lipidy, odlišné od 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu, se mohou použít k náhradě 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu. Při zvláště výhodném provedení tohoto typu formulace, poměr dipalmitoylfosfatidylcholinu k 1-palmitoyl-2-oleoylfosfatidylglycerolu a ke kyselině palmitové činí 7:3:1, s konečnou koncentrací fosfolipidu odpovídající trojnásobnému množství lipidu, s obsahem vpraveného vápníku přibližně 0,01 až 10 mg/ml Ca^{2+} (viz například patentová přihláška PCT č. WO 91/00871 Genentech Inc. a California Biotechnology Inc. /publikována dne 24. ledna 1991/).

Disperze se s výhodou zahřívá na teplotu přibližně od 25 do 75 °C a fosfolipid, výhodně dipalmitoylfosfatidylcholin, je obsažen v množství od 8 do 50 mg/ml vodné nosné látky. Teploty způsobené zahříváním se zde vztahují k teplotám vyhřívací pomůcky (například vyhřívacího bloku), přičemž kapalná formulace povrchové aktivní látky sama dosahuje teploty, která je poněkud nižší než teplota vyhřívací pomůcky v důsledku chladícího účinku rozprašování. Při praktickém provádění tohoto vynálezu se mohou používat různé kombinace vyhřívání a koncentrace fosfolipidu. Následující ztělesnění vynálezu, využívající dipalmitoylfosfatidylcholin jsou uvede-

na k ilustrativním účelům, přičemž zvláště výhodné provedení se uvádí v odstavci 7 dále:

1) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 25 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 30 do 50 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 35 do 45 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 35 do 45 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 37 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 40,5 mg/ml.

2) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 70 do 90 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 55 do 65 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 75 do 85 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 60 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 81 mg/ml.

3) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 25 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 70 do 90 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 35 do 45 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 75 do 85 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 37 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 81 mg/ml.

4) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je

obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 30 do 50 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 55 do 65 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 35 do 45 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 60 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 40,5 g/ml.

5) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 25 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 5 do 24 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 35 do 45 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 8 do 20 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 37 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 13,5 g/ml.

6) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 5 do 24 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 55 do 65 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 8 do 20 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 60 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 13,5 g/ml.

7) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 5 do 24 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 8 do 20 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 50 °C

a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 13,5 g/ml.

8) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 30 do 50 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 35 do 45 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 50 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 40,5 g/ml.

9) Způsob, při kterém se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství přibližně od 70 do 90 mg/ml. Výhodněji se disperze zahřívá na teplotu přibližně od 45 do 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství přibližně od 75 do 85 mg/ml. Při nejvýhodnějším provedení se disperze zahřívá na teplotu okolo 50 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství zhruba 81 g/ml. Obecně se disperze zahřívá na teplotu která je nejméně okolo teploty zvratu fosfolipidu. Je třeba poznamenat, že rozprašování formulace povrchově aktivní látky působí snížení teploty u této formulace, v důsledku čehož se bude vyžadovat udržování teploty formulace povrchově aktivní látky i za teploty místnosti během nepřetržitého rozprašování.

Vdechovatelné částice povrchově aktivní látky se mohou dodávat pacientovi za použití libovolné vhodné pomůcky, včetně spontánní inhalace a mechanické ventilace. Při spontánní inhalaci pacient vdechuje částice povrchově aktivní látky. Je známa řada různých aerosolových inhalátorů. Výraz "ventilace" se zde vztahuje k procesu cyklického vtačování vzduchu boha-

tého na kyslík do plic a umožnění, aby vzduch ochuzený o kyslík unikl z plic, přičemž alespoň jedna plíce pacienta napomáhá jeho dýchání nebo dýchá pro pacienta, pokud by pacient jinak sám nemohl dýchat. Ventilace se může provádět buď na jedné nebo obou plicích pacienta v závislosti na tom, zda některá plíce je blokována, zhroucená nebo jinak neschopná plnit svoji funkci. Je známá řada typů ventilačních zařízení. Když vdechovatelné částice jsou určeny k svému podání ventilací, vdechovatelné částice se obvykle tvoří pomocí rozprašovače, přičemž výstup rozprašovače je kombinován s výstupem ventilátoru nebo dodává tomuto ventilátoru částice pro konečné dodávání pacientovi. Rozprašovač může plnit ventilátor během fáze vdechování nebo fáze vydechování ventilátorového cyklu.

Při provádění tohoto vynálezu se může použít libovolného rozprašovacího zařízení schopného vytvářet vdechovatelné částice (například částice o velikosti středního prostorového průměru od 1 do 10 μm) z formulace povrchově aktivní látky jaká je popsána výše, včetně jak tryskových rozprašovačů, tak ultrazvukových rozprašovačů. Odborník v oboru zná, že aerosol produkovaný rozprašovacím zařízením může obsahovat větší částice, které nejsou vdechovatelné, pokud je obsaženo dostatečné množství vdechovatelných částic aerosolu k dosažení zamýšleného účelu. Příklad tryskového rozprašovače je popsán v US patentu č. 4 832 012. Příklady ultrazvukových rozprašovačů zahrnují rozprašovače Porta-SonicTM a Pulmo-SonicTM, které vyrábí firma The DeVilbiss Co., Somerset, Pennsylvania, USA.

Příklady provedení vynálezu

Tento vynález je detailněji vysvětlen v příkladech, které následují. V těchto příkladech se někdy používá zkratek, přičemž cm^3 znamená kubický centimetr, g označuje gram, mg

znamená miligram, ml znamená mililitr, mOsm označuje mili-osmol, N znamená normální, l označuje litr, min znamená minutu, h označuje hodinu, procenta jsou uvedena na základě hmotnosti, t.m. označuje teplotu místnosti a teploty jsou uváděny ve stupních celsia, pokud není uvedeno jinak.

Příklad 1

Příprava formulace povrchově aktivní látky

25 cm³ sterilní vody neobsahující pyrogenní látky se vnese do sterilní injekční stříkačky pro jednorázové použití a zavede jako injekce do sterilní evakuované lahvičky o objemu 50 cm³, která obsahuje lyofilizovaný prášek sestávající z 2,025 g dipalmitoylfosfatidylcholinu, 225 mg hexadekanolu, 150 mg tyloxapolu a 876,6 mg chloridu sodného. Tato směs je známa (viz US patent č. 4 826 621 Clementse). Voda a prášek se intenzivně míchají obracením lahvičky a směs se opakovaně odebírá do injekční stříkačky a vrací zpět pohybem pístu této stříkačky. Jako výsledek se dostane přibližně 25 cm³ formulace povrchově aktivní látky, kterou tvoří spíše suspenze než roztok. Prostředek se umístí do rozprašovací jímky a zředí podle potřeby 125 ml sterilní vody neobsahující pyrogenní látky. Výsledná formulace povrchově aktivní látky je 0,1-normální, vzhledem k obsahu chloridu sodného, má osmolalitu 190 mOsm/l a obsahuje 13,5 mg/cm³ dipalmitoylfosfatidylcholinu, 1,5 mg/cm³ hexadekanolu a 1 mg/cm³ tyloxapolu. Formulace se dále označuje jako formulace povrchově aktivní látky 1X. Formulace povrchově aktivní látky 3X a 6X se vyrobí v podstatě stejným způsobem s tím rozdílem, že obsah dipalmitoylfosfatidylcholinu, hexadekanolu a tyloxapolu se hmotnostně zvýší třikrát a šestkrát. Obsah chloridu sodného se ve formulacích 3X a 6X udržuje na koncentraci přibližně 0,1-normální.

Příklad 2

Testovací zařízení

Testovací zařízení je sestaveno z ventilátoru SERVO 900C (Siemens-Elema AB, Švédsko) a rozprašovací jednotky VISANTM (Vortran Medical Technology, Inc., Sacramento, Kalifornie, USA). Stlačený vzduch (o tlaku 344 kPa) se dodává do mísiče vzduchu a kyslíku a používá jako přiváděný plyn jak do ventilátoru, tak do rozprašovače, přičemž plyn zaváděný do rozprašovače se dodává vedením přes oddělený průtokoměr rozprašovače. Řídící jednotka rozprašovače je elektricky připojena ke zdroji elektrického signálu respirátoru, který sleduje inhalační fázi dýchacího cyklu tak, že rozprašená povrchově aktivní látka se dodává přerušovaně během inhalační fáze respirátorové funkce ventilátoru. Jak ventilátor, tak výstup rozprašovače jsou připojeny k trubici Y pro pacienta, která je opět připojena k sekci hadice TYGONTM (R-3603, vnitřní průměr 2,2 cm), svinuté uvnitř čtyřlitrové Ehrlenmeyerovy filtrační baňky. Výstup z filtrační baňky je připojen k druhé sekci hadice TYGONTM, která je svinuta uvnitř druhé čtyřlitrové Ehrlenmeyerovy filtrační baňky. Svinuté hadice slouží jako umělé plíce k zachycování rozprašované formulace povrchově aktivní látky. Filtrační baňky jsou uzavřeny latexovými rukavicemi a před každým experimentem se umístí na lázni sestávající z methanolu a tuhého oxidu uhličitého. Během experimentu se reguluje teplota lázně, aby se vyhnulo uzavření jímací trubice způsobenému nízkou teplotou.

Ventilátor a rozprašovací jednotka se seřídí k dodávání kombinovaného celkového objemu respiračního vzduchu (V_t) 750 ml na vdech. Počáteční objemy respiračního vzduchu se kontrolují instalováním pryžových "plic" při trubici Y pro pacienta a pozorují se příslušná měřidla ventilátoru. Tlak ve

vzduchové cestě dosahovaný ventilátorem (měřený v cm vodního sloupce) se sleduje a zapisuje na začátku a v každé době vzorkování, pro stanovení protitlaku v systému. Nastavení přístrojů pro ventilátor a rozprašovací jednotku je toto:

Ventilátor je seřízen na pracovní tlak 70 cm vodního sloupce, rychlost dýchání (f) činí 20 vdechů za minutu, inhalační frakce (P_i) představuje 25 % a respirační objem za minutu (MV) obnáší 7,5 l/min. Rozprašovač je seřízen na pracovní tlak 345 kPa, rychlost toku (z průtokoměru) činí 30 l/min a rychlost toku (z rozprašovače) je 500 ml/s (v rozprašovači jsou otevřeny 2 trysky).

Příklad 3

Rozprašování formulací povrchově aktivní látky za teploty místnosti a teploty ledové lázně

Provede se celkem 18 experimentů za použití parametrů shrnutých v tabulce 1 (následující tabulky se vztahují k tabulce 1 pro vymezení experimentů).

Tabulka 1 - Experimentální parametry

| Experiment číslo | Prostředek povrchově aktivní látky | Délka dodá- vací trubice (cm) | Teplota lázně rozprašovače |
|---------------------|--|-------------------------------------|----------------------------------|
| A | 1X | 122 | led |
| B | 1X | 15 | led |
| C | 1X | 61 | led |
| D | 3X | 122 | led |
| E | 3X | 15 | led |
| F | 3X | 61 | led |
| G | 6X | 122 | led |
| H | 6X | 15 | led |
| I | 6X | 61 | led |
| J | 1X | 122 | t.m. |
| K | 1X | 15 | t.m. |
| L | 1X | 61 | t.m. |
| M | 3X | 122 | t.m. |
| N | 3X | 15 | t.m. |
| O | 3X | 61 | t.m. |
| P | 6X | 122 | t.m. |
| Q | 6X | 15 | t.m. |
| R | 6X | 61 | t.m. |

Mezi proměnné parametry se zahrnuje koncentrace formulace povrchově aktivní látky (1X, 3X, 6X), u rozprašovače délka dodávací trubice Y, teplota lázně rozprašovače (teplota ledové vody je přibližně 2 °C, teplota místnosti je okolo 22 °C) a doba rozprašování. Vzorky zachycené v rozprašovači a jímacích baňkách se odeberou za 2, 4 a 6 hodin po začátku rozprašování. Rozprašovače se zvažují na začátku a po skončení experimentu, ke stanovení hmotnosti celkového množství

rozprášené povrchové aktivní látky. Jímací baňky se výjmou z ventilátorového okruhu za předem stanovené doby vzorkování a nechají se ohřát k vyrovnání teploty na teplotu místnosti. Změří se celkový objem zachyceného materiálu a poté 150 ml destilované vody se vypláchne baňka a hadice TYGON. Zachycené frakce a proplachovací voda se spojí a smíchají a odměří se stejné díly do 4 skleněných lahvíček o objemu 50 ml.

Vzorky z rozprašovače se získají odebráním 10ml frakce z rozprašovače pro každou dobu vzorkování. Tři 3ml podíly z frakcí z rozprašovače se poté přenesou do skleněných lahvíček o objemu 10 ml. Jak zachycené vzorky, tak vzorky z rozprašovače se lyofylizují za použití vymrazovací sušičky VIRTIS po dobu 3 až 4 dnů.

Hadice TYGON a baňky se důkladně propláchnou horkou a destilovou vodou a nechají vysušit po každé době vzorkování. Rozprašovačová a ventilátorová hadice se nahradí pro každý experiment.

Lyofylizované vzorky se rozpustí buď v methanolu nebo chloroformu, příslušně zředí podle své počáteční koncentrace a testují

a) pro stanovení koncentrace dipalmitoylfosfatidylcholinu vysokoučinnou kapalinovou chromatografií (HPLC),

b) pro stanovení koncentrace tyloxapolu působením ultrafialového záření a

c) pro stanovení koncentrace cethylalkoholu plynovou chromatografickou analýzou.

Relativní úbytek hmotnosti z rozprašovače (který může být ve vztahu k účinnosti) se stanoví z počáteční a konečné hmotnosti, které jsou uvedeny v tabulce 2. Je třeba poznamenat, že číselné hodnoty úbytku hmotnosti zahrnují údaje získané ze 30 ml kapaliny, která byla odebrána z rozprašovače pro účely

vzorkování. Ačkoliv tyto frakce nejsou zpracovány do formy aerosolu, odebrané množství je konstatní pro každý experiment. Stanovení ztráty hmotnosti se proto může použít pro porovnání proměnných parametrů experimentů.

Tabulka 2 - Relativní ztráta hmotnosti z rozprašovače

| Experiment číslo | Procentuální ztráta hmotnosti | Průměrná hodnota |
|---------------------|----------------------------------|---------------------|
| A | 60,1 | |
| B | 62,9 | 61,1 |
| C | 60,2 | |
| D | 58,2 | |
| E | 48,3 | 51,5 |
| F | 48,1 | |
| G | 61,6 | |
| H | 49,1 | 55,5 |
| I | 55,4 | |
| J | 73,0 | |
| K | 80,9 | 73,1 |
| L | 65,3 | |
| M | 61,1 | |
| N | 52,7 | 57,5 |
| O | 58,6 | |
| P | 62,7 | |
| Q | 56,0 | 61,4 |
| R | 65,0 | |

Tabulka 3 uvádí objemy zachycené v jímacích baňkách při experimentech. Experimenty jsou seskupeny podle rekonstituční síly (1X, 3X nebo 6X) formulace povrchové aktivní látky. V hodnotách není sklon svědčící o tom, že délka dávkovací trubice má jakýkoli významný účinek na objem nebo hmotnost zachycené formulace povrchové aktivní látky. Také se nezjistí významné rozdíly ve výsledcích dosažených při zachycování v trvání 2, 4 a 6 hodin. Proto ke zjednodušení možnosti přezkoušení údajů se uvádějí průměry z hodnot délky jímací trubice a celkové zachycené množství pro koncentrace 1X, 3X a 6X při teplotě ledové lázně nebo teplotě místnosti. Stanovení celkové hmotnosti zachycených frakcí je uvedeno v tabulkách 4 až 7.

Tabulka 3 - Zachycené objemy

| Experiment číslo | 2 hodiny | 4 hodiny | 6 hodin | Celkově zachycený objem (ml) |
|---------------------|----------|----------|---------|------------------------------------|
| A* | 19 | 22 | 17 | 58 |
| B | 14 | 17 | 12 | 43 |
| C | 17 | 17 | 15 | 49 |
| D | 12 | 21 | 20 | 53 |
| E | 14 | 19 | 9 | 42 |
| F | 17 | 14 | 14 | 45 |
| G* | 19 | 19 | 21 | 59 |
| H* | 18 | 10 | 5 | 33 |
| I | 19 | 15 | 14 | 48 |
| J | 20 | 10 | 25 | 55 |
| K* | 21 | 19 | 17 | 57 |
| L | 18 | 16 | 17 | 51 |
| M | 18 | 26 | 17 | 61 |
| N | 22 | 27 | 19 | 68 |
| O | 23 | 22 | 14 | 59 |
| P | 18 | 20 | 18 | 56 |
| Q | 19 | 20 | 17 | 56 |
| R | 25 | 19 | 20 | 64 |

Tabulka 4 - Zachycené frakce - stanovení dipalmitoylfosfatidylcholinu

| Formulace povrchově aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašo- vači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|---|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 13,5 | 128,1 | 50,0 |
| 3X | led | 40,5 | 412,8 | 46,7 |
| 6X | led | 81,0 | 894,9 | 46,7 |
| 1X | t.m. | 13,5 | 217,7 | 54,3 |
| 3X | t.m. | 40,5 | 665,5 | 62,7 |
| 6X | t.m. | 81,0 | 1341,5 | 58,7 |

Tabulka 5 - Zachycené frakce - stanovení tyloxapolu

| Formulace povrchově aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašo- vači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|---|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 1,0 | 19,4 | 50,0 |
| 3X | led | 3,0 | 51,2 | 46,7 |
| 6X | led | 6,0 | 91,2 | 46,7 |
| 1X | t.m. | 1,8 | 27,5 | 54,3 |
| 3X | t.m. | 3,0 | 81,5 | 62,7 |
| 6X | t.m. | 6,0 | 138,1 | 58,7 |

Tabulka 6 - Zachycené frakce - stanovení cetylalkoholu

| Formulace povrchové aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašo- vači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|---|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 1,5 | 12,1 | 50,0 |
| 3X | led | 4,5 | 40,4 | 46,7 |
| 6X | led | 9,0 | 77,3 | 46,7 |
| 1X | t.m. | 1,5 | 21,1 | 54,3 |
| 3X | t.m. | 4,5 | 62,7 | 62,7 |
| 6X | t.m. | 9,0 | 144,4 | 58,7 |

Tabulka 7 - Zachycené frakce - stanovení chloridu sodného

| Formulace povrchové aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašo- vači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|---|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 5,8 | 61,3 | 50,0 |
| 3X | led | 5,2 | 67,6 | 46,7 |
| 6X | led | 5,8 | 77,1 | 46,7 |
| 1X | t.m. | 5,8 | 104,7 | 54,3 |
| 3X | t.m. | 5,2 | 100,3 | 62,7 |
| 6X | t.m. | 5,8 | 117,6 | 58,7 |

Analýzy z tabulek 2 až 7 uvedených výše ukazují, že účinnost rozprašování podle stanovení hmotnosti, zachycených

objemů a zachycené hmotnosti je vyšší při použití teploty lázně rozprašovače odpovídající teplotě místnosti (experimenty J až R), v porovnání s teplotou lázně rozprašovače odpovídající teplotě ledové vody (experimenty A až J).

Příklad 4

Rozprašování formulací povrchově aktivní látky za teploty 37 °C

Tento experiment se provádí ke stanovení průběhu rozprašování povrchově aktivní látky za teploty 37 °C. Použité zařízení je v podstatě stejné, jako je popsáno v příkladě 2 výše s tím rozdílem, že se s lázní rozprašovače použije ponorného ohřivače a cirkulátoru BRINKMAN IC-2. Zdvojené experimenty se provádějí za teploty 37 °C pro koncentrace formulace povrchově aktivní látky 1X, 3X a 6X. Experimentální podmínky jsou v podstatě stejné, jako jsou popsány v příkladě 2 výše s tím rozdílem, že

a) délky dodávací trubice 122 cm se použije pro všechny experimenty,

b) teplota lázně v rozprašovači se udržuje 37 °C,

c) rozprašovač se na počátku naplní 200 ml příslušné formulace povrchově aktivní látky (v protikladu ke 150 ml v příkladě 2),

d) dalších 50 ml formulace povrchově aktivní látky se přidá do rozprašovače po čtyřhodinovém období zachycování pro experimenty s formulací 3X a 6X,

e) proplachovací objemy pro jímací nádoby a hadici TRIGON se sniží na 50 ml pro každou baňku a hadici (v porovnání k 75 ml v předcházející studii) a

f) testování zachycených frakcí a proplachovací vody pro dipalmitoylfosfatidylcholin se provádí přímo po zředění vzorku methanolem a nikoli po lyofilizaci.

Zvýšením počátečního objemu v rozprašovači a přidavkem 50 ml formulace povrchové aktivní látky po 4 hodinách se dosáhne udržení dostatečné úrovně povrchové aktivní látky rekonstituované léčivé látky v rozprašovači. Objemy proplachovací vody se snižují k zahuštění formulace povrchové aktivní látky, obsažené v promývací vodě a frakcích zachycených vzorků.

Shrnuté výsledky jsou uvedeny v tabulce 8 společně s hodnotami dříve dosaženými pro analogické experimenty (dodávací trubice délky 122 cm) za teploty ledové lázně a teploty místnosti, které byly získány v příkladě 3 uvedeném výše. Pokud se experimenty opakovaly, získané hodnoty byly spojeny dohromady. Jak zachycené objemy, tak celková hmotnost dipalmitoylfosfatidylcholinu vzrostly, v porovnání s hodnotami dosaženými při dřívějších studiích za teploty ledové lázně a teploty místnosti. Obr. 1 až 3 ilustrují průměrnou celkovou hmotnost zachyceného dipalmitoylfosfatidylcholinu jako funkci teploty lázně rozprašovače. Použité hodnoty teplot lázní činí 2 °C (led), 22 °C (teplota místnosti) a 37 °C (zahřívání). Výsledky ukazují, že vzrůstá celková hmotnost dodávaného dipalmitoylfosfatidylcholinu se vzrůstem teploty lázně rozprašovače.

Tabulka 8 - Zachycené frakce - stanovení dipalmitoylfosfatidylcholinu

| Formulace povrchově aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašovači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|--|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 13,5 | 119 | 58 |
| 1X | t.m. | 13,5 | 215 | 55 |
| 1X | 37 °C | 13,5 | 385 | 112 |
| 1X | 60 °C | 13,5 | 562 | 115 |
| 3X | led | 40,5 | 604 | 53 |
| 3X | t.m. | 40,5 | 719 | 61 |
| 3X | 37 °C | 40,5 | 1513 | 101 |
| 3X | 60 °C | 40,5 | 947 | 109 |
| 6X | led | 81,0 | 1012 | 58 |
| 6X | t.m. | 81,0 | 1274 | 56 |
| 6X | 37 °C | 81,0 | 988 | 80 |
| 6X | 60 °C | 81,0 | 2045 | 79 |

Příklad 5

Rozprašování formulací povrchově aktivní látky za teploty 60 °C

Tento experiment se provádí ke stanovení rozprašování formulace povrchově aktivní látky za teploty 60 °C při použití zařízení a experimentálních parametrů jako jsou popsány v příkladě 4 výše.

Shrnuté výsledky jsou uvedeny v tabulce 9 společně

s hodnotami dříve dosaženými pro analogické experimenty (dodávací trubice délky 122 cm) za teploty ledové lázně, teploty místnosti a teploty 37 °C, jak je popsáno v příkladech 3 a 4 uvedených výše. Pokud se experimenty opakovaly, získané hodnoty byly spojeny dohromady. Obr. 4 až 6 ilustrují průměrnou celkovou hmotnost zachyceného dipalmitoylfosfatidylcholinu jako funkci teploty lázně rozprašovače. Tyto údaje ukazují, že celková hmotnost dipalmitoylfosfatidylcholinu dodávaného z rekonstituovaných formulací 1X a X výrazně vzrůstá, při porovnání s výsledky dosaženými pro analogické experimenty při teplotě ledové lázně, teplotě místnosti a teplotě 37 °C.

S překvapením formulace povrchové aktivní látky 3X ukazuje pokles dodávání dipalmitoylfosfatidylcholinu za teploty rozprašování 60 °C, ve srovnání s výsledky zjištěnými při experimentu za teploty 37 °C. Mechanismus způsobující tento jev není znám.

Tabulka 9 - Zachycené frakce - stanovení dipalmitoylfosfatidylcholinu

| Formulace povrchově aktivní látky | Teplota lázně rozprašovače | Počáteční koncentrace v rozprašovači (mg/ml) | Průměrná celková hmotnost (mg) | Průměrný celkový objem (ml) |
|---|----------------------------------|--|---|--------------------------------------|
| 1X | led | 13,5 | 119 | 58 |
| 1X | t.m. | 13,5 | 215 | 55 |
| 1X | 37 °C | 13,5 | 385 | 112 |
| 3X | led | 40,5 | 604 | 53 |
| 3X | t.m. | 40,5 | 719 | 61 |
| 3X | 37 °C | 40,5 | 1513 | 101 |
| 6X | led | 81,0 | 1012 | 58 |
| 6X | t.m. | 81,0 | 1274 | 56 |
| 6X | 37 °C | 81,0 | 988 | 80 |

Přehled obrázků na výkresech

Obr. 1 ukazuje hmotnost během 6 hodin zachyceného dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v miligramech (mg), z rozprašované formulace povrchově aktivní látky 1X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 37 °C.

Obr. 2 ukazuje hmotnost během 6 hodin zachyceného dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v mg, z rozprašované formulace povrchově aktivní látky 3X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 37 °C.

Obr. 3 ukazuje hmotnost během 6 hodin zachyceného dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v mg,

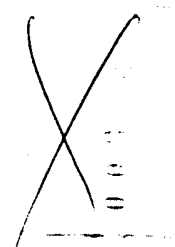
z rozprašované formulace povrchové aktivní látky 6X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 37 °C.

Obr. 4 ukazuje celkovou hmotnost zachyceného dipalmitoyl-fosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v mg, z rozprašované formulace povrchové aktivní látky 1X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 60 °C.

Obr. 5 ukazuje celkovou hmotnost zachyceného dipalmitoyl-fosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v mg, z rozprašované formulace povrchové aktivní látky 3X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 60 °C.

Obr. 6 ukazuje celkovou hmotnost zachyceného dipalmitoyl-fosfatidylcholinu (DPPC), vyjádřenou v mg, z rozprašované formulace povrchové aktivní látky 6X, která byla udržována za teploty v rozmezí od 2 do 60 °C.

925-93



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob přípravy formulace povrchově aktivní látky pro podání do plic pacienta, v y z n a č u j í c í s e t í m, že disperze fosfolipidu dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC) ve vodné nosné látce v množství od přibližně 10 do zhruba 90 mg na ml vodné nosné látky se zahřeje na teplotu od přibližně 25 do zhruba 90 °C před rozprašováním a dodáním vdechovatelných částic povrchově aktivní látky do plic pacienta.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se disperze zahřeje na teplotu alespoň okolo teploty zvratu fosfolipidu.

3. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že disperze povrchově aktivní látky dále zahrnuje smáčecí prostředek a tato disperze má povrchové napětí menší než $15 \cdot 10^{-3} \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$.

4. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že smáčecím prostředkem je cetylalkohol.

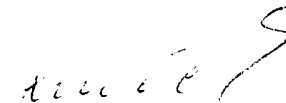
5. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že disperze se zahřívá na teplotu od přibližně 25 do zhruba 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství od přibližně 5 do 24 mg/ml.

6. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že disperze se zahřívá na teplotu od přibližně 45 do zhruba 75 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen ve vodné nosné látce v množství od přibližně 70 do 90 mg/ml.

7. Formulace povrchově aktivní látky k použití při ošetřování plicních chorob, upravená pro rozprašování

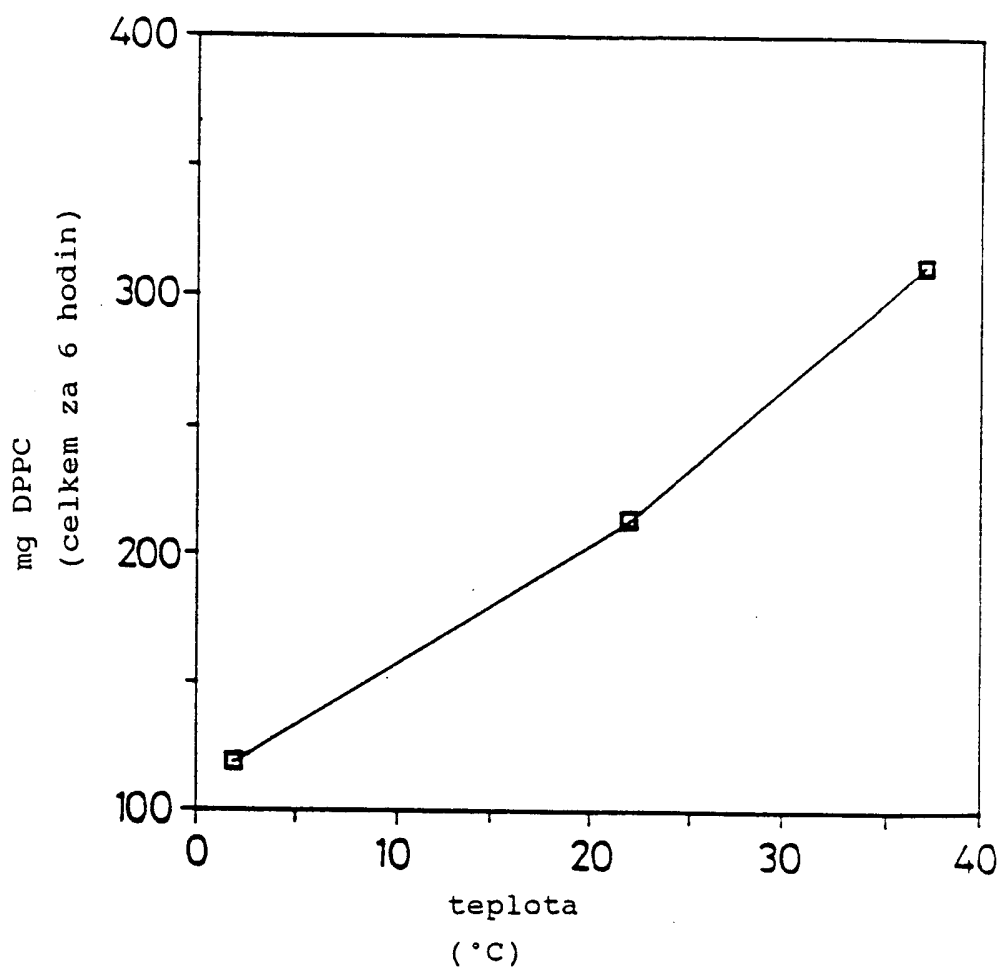
vdechovatelných částic, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje disperzi fosfolipidu dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC) ve vodné nosné látce v množství od přibližně 10 do zhruba 90 mg na ml vodné nosné látky, přičemž disperze je zahřáta na teplotu od přibližně 25 do zhruba 90 °C před rozprašováním a dodáním vdechovatelných částic povrchově aktivní látky do plic pacienta.

8. Formulace povrchově aktivní látky podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m, že disperze je zahřáta na teplotu od přibližně 45 °C do zhruba 55 °C a dipalmitoylfosfatidylcholin je obsažen v množství od přibližně 8 do 20 mg/ml.

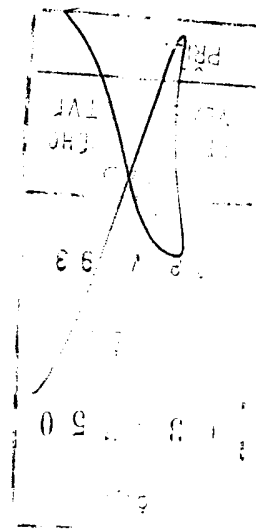

JUDr. Ivan KOREČEK
Advokátní a patentová kancelář
110 00 Praha 1, Jungmannova 16
tel.: 26 14 68

935-93

formulace povrchové aktivní látky 1X

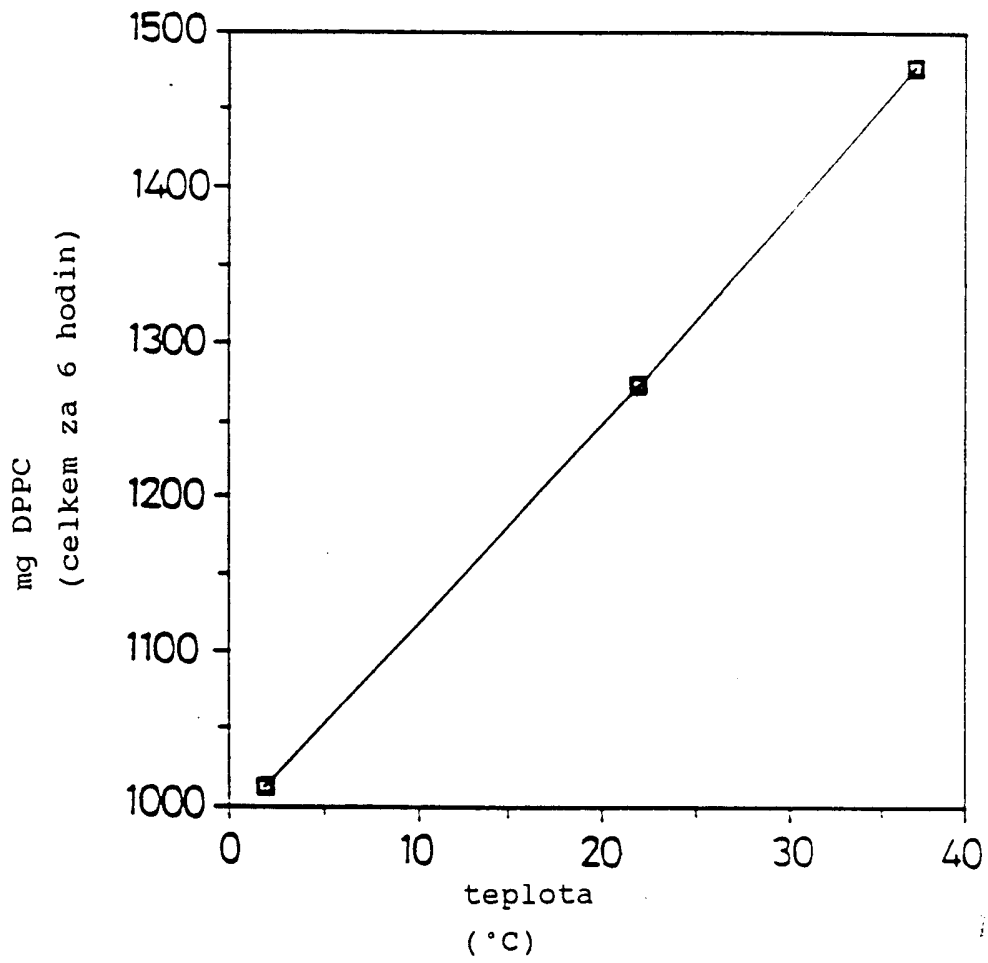


Obr. 1

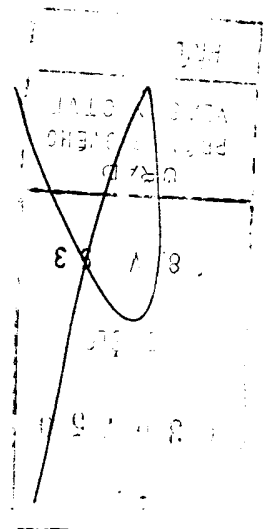


935-93

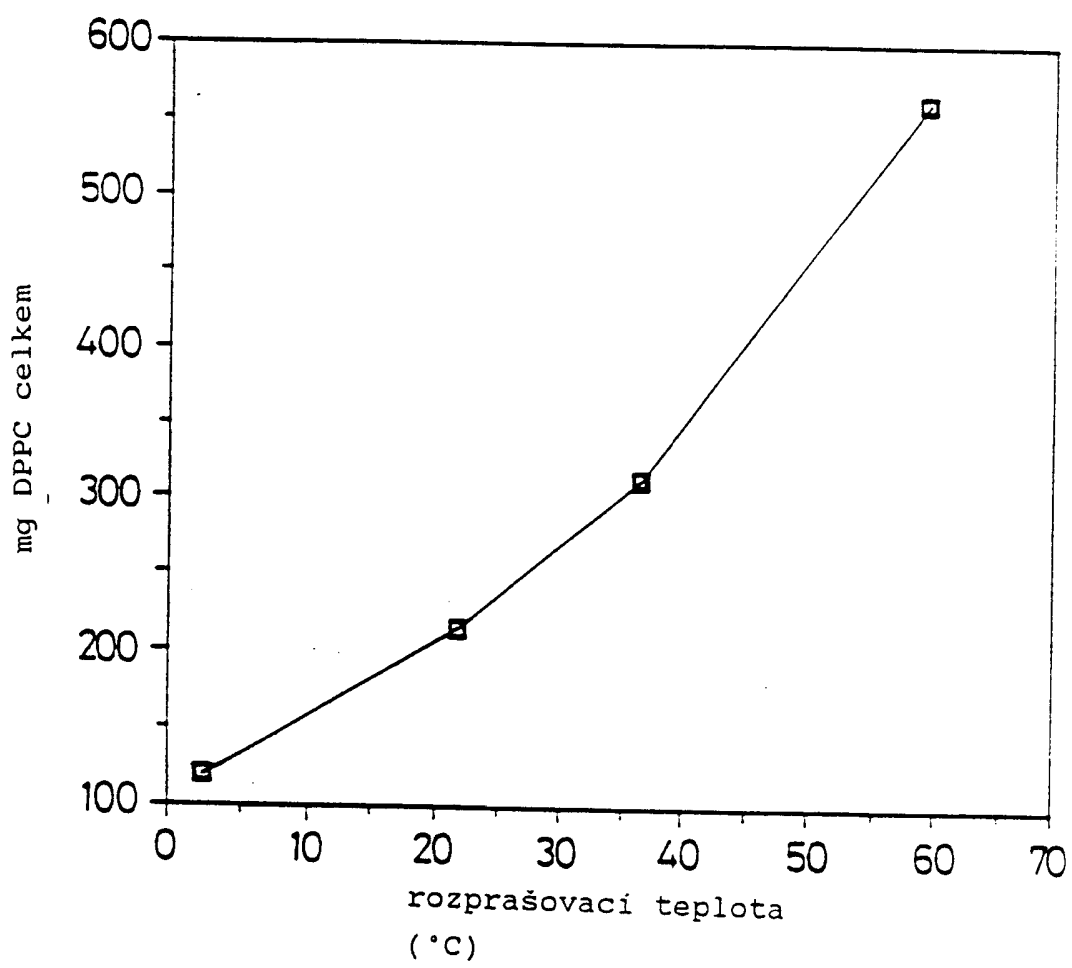
formulace povrchově aktivní látky 6X



Obr. 3



formulace povrchové aktivní látky 1X

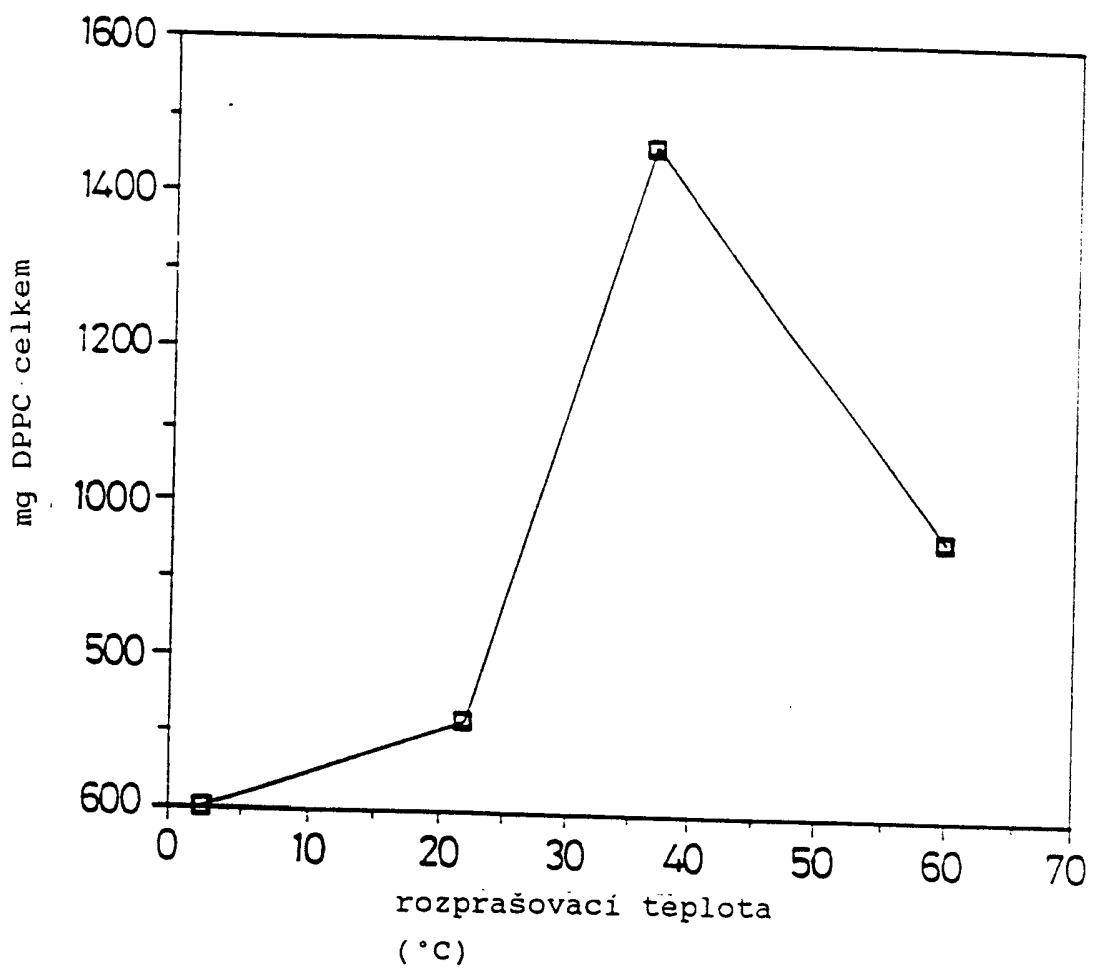


Obr. 4

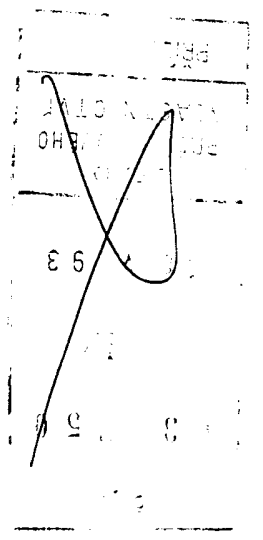
| | |
|------|-----|
| PR | 180 |
| VLAS | 180 |
| OH | 180 |
| 86 | 180 |
| 09 | 180 |

93,5-93

formulace povrchově aktivní látky 3X

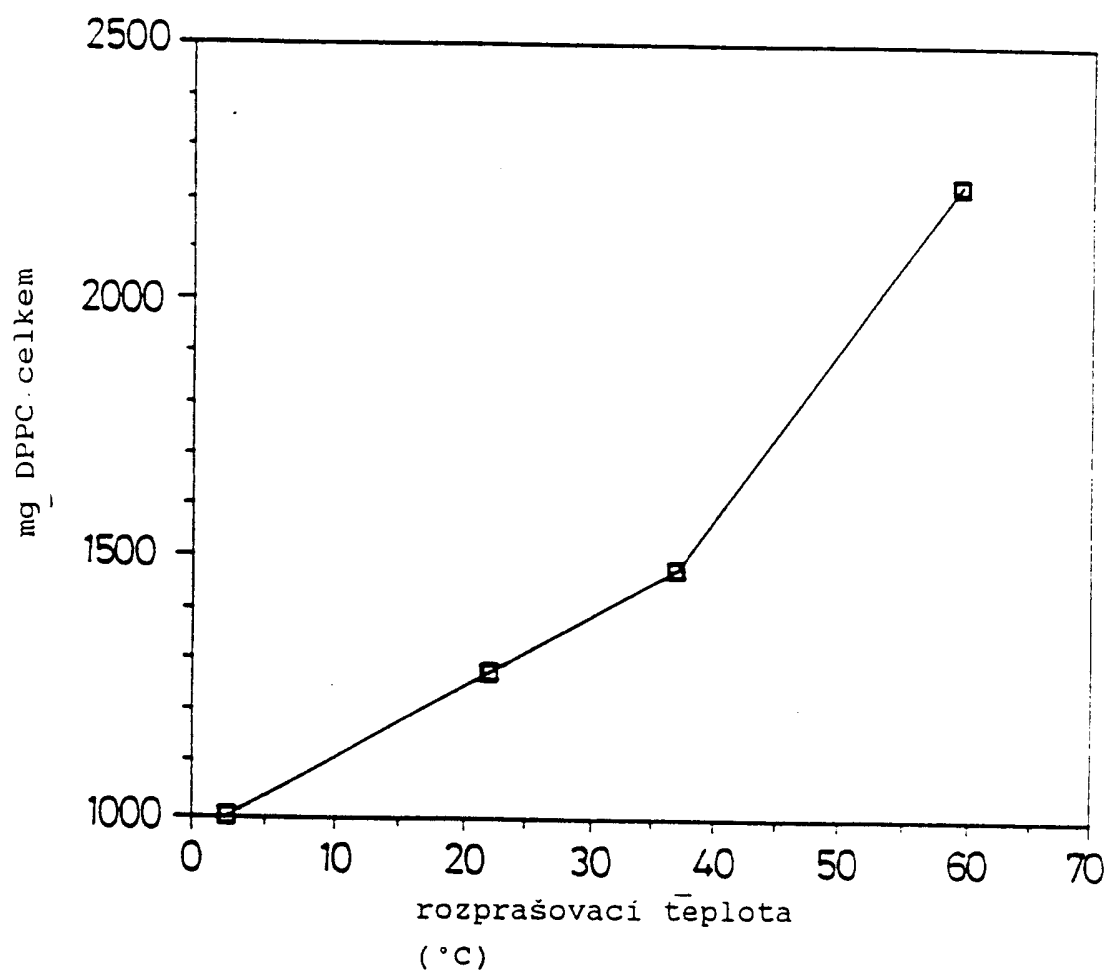


Obr. 5



435-93

formulace povrchově aktivní látky 6X



Obr. 6

