

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

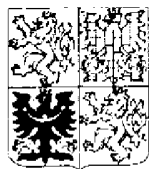
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

5548-89

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **29. 09. 89**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.09.88**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **88/8822857**

(33) Země priority: **GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13. 01. 99**
(Věstník č. 1/99)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁶:

A 61 K 9/107

A 61 K 9/50

A 61 K 9/127

A 61 K 35/16

A 61 K 38/00

(71) Přihlášovatel:

PATRALAN LIMITED, St. Helier, NJ, US;

(72) Původce:

Cho Young W., Chester, NJ, US;

Flynn Michael J., Leatherhead, GB;

(74) Zástupce:

Všetečka Miloš JUDr., Praha 1;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Farmaceutický prostředek a způsob
přípravy želatinové kapsle a perorálně
nebo rektálně přijatelného prostředku**

(57) Anotace:

Farmaceutický prostředek, který sestává z mikroemulze obsahující hydrofilní fázi a hydrofobní fázi, přičemž /A/ hydrofilní fáze je dispergována v hydrofobní fázi, /B/ hydrofilní fáze obsahuje biologicky účinný materiál, a /C/ hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál z něhož se chylomikrony tvoří in vivo.

CZ 5548-89 A3

Je zřejmé, že nejsnadnějším běžným způsobem pro příjem jakéhokoliv léku je perorální podání. Toto podání může mít například formu sirupu, elixíru, tablet, kapslí, granulí, prášků nebo jakoukoliv běžnou další formu a z hlediska nemocného jde o nejjednodušší a nejméně nepohodlnou nebo nepříjemnou cestu podání. Je proto velmi nešťastné řešení, kdy výhodnou cestou podání pro bílkovinné materiály je odlišná cesta než perorální podání, neboť při tomto druhu aplikace dochází k průchodu těchto prostředků žaludkem, v němž se řada materiálů včetně bílkovin rozkládá. Jde totiž

o to, že v kyselém, hydrolytickém a proteolytickém prostředí žaludku dochází k účinnému štěpení bílkovinných materiálů na aminokyseliny a oligopeptidy, takže nejvýše nepatrné množství různých biologicky účinných bílkovin přečká při perorálním podání průchod žaludkem a až potom se vstřebává v tenkém střevu.

Důsledkem tohoto jevu je například u cukrovkářů nepříjemná skutečnost, že léky bílkovinné povahy je zapotřebí podávat parenterálně, často subkutánně, intramuskulárně nebo intravenózně, což je spojeno s velkým nepohodlím, ohrížením a bolestí pro nemocné.

V tomto případě nejde pouze o izolovaný problém pro lidi, kteří trpí cukrovkou, protože existuje celá řada dalších onemocnění, u nichž je rovněž nutná léčba bílkovinnými látkami. Pokud jde o cukrovku, potom je třeba uvést, že ve všech zemích světa se vyskytuje velké množství lidí trpících touto chorobou. Jde o chronickou poruchu metabolismu uhlohydrátů, tuků a bílkovin. Toto onemocnění je charakterizováno zvýšenou hladinou cukru v krvi a výskytem cukru v moči. příčinou těchto jevů je chybné nebo nedostatečné vylučování insulínu. Existují dvě hlavní formy tohoto onemocnění.

První forma, kterou trpí přibližně 10 % všech idiopatických diabetiků, je diabetes, který začíná v mladém věku a je závislý na insulínu (IDDM). Tato varianta se často poprvé projeví již v mládí a je charakterizována progresivní ztrátou schopnosti β -buněk slinivky břišní vylučovat insulin, takže dochází k progresivní závislosti metabolismu uhlohydrátů na insulínu, dodávaném zvenčí. Tato skutečnost platí také u neidiopatických "sekundárních" diabetiků.

jejichž porucha má svůj původ v onemocnění slinivky břišní. Druhá varianta idiopatického diabetu většinou nastupuje později než v mládí a je také známa jako cukrovka, která není závislá na podávání insulínu (NIDDM).

Vzhledem k velkému počtu nemocných, kteří trpí některou z uvedených forem cukrovky by bylo zapotřebí vyvinout farmaceutické prostředky s obsahem insulínu pro perorální podání v takové formě, aby insulín byl alespoň poněkud chráněn proti působení prostředí v žaludku. Přesto že již dříve byly uskutečňovány pokusy vyvinout prostředky tohoto typu, není dosud znám žádný takový prostředek, který by bylo možno běžně užívat. V dalším jsou uvedeny některé z prostředků navrhovaných podle dosavadního stavu techniky.

V mezinárodní zveřejněné patentové přihlášce WO-8701035 se navrhuje parenterální prostředek s obsahem účinných látek, rozpustných v tucích, a vitaminů. Tento prostředek obsahuje "pseudomicely".

V mezinárodní zveřejněné patentové přihlášce WO-8705505 se popisují perorálně použitelné prostředky s obsahem insulínu, které jsou nanášeny na pevné částice z prostředku vodné povahy. Tyto částice, opatřené povlakem insulínu, jsou pak dále povlékány tukovitými látkami.

V patentu Spojených států amerických č. 4 849 405 z 18. července 1989 se popisují perorálně podávané prostředky s obsahem insulínu. Jde o dvoufázové prostředky, v nichž obě fáze jsou vodné a udržují se odděleně koacervátovým systémem.

V evropském patentovém spisu č. 140 085 se popisují

10.11.90

tukovité prostředky s obsahem účinných látek, přičemž tuk v těchto prostředcích tvoří vesikuly.

V publikaci *Shichiri a kol., Acta diabet. lat., 15, 175 až 183 (1978)* se popisují insulinové micely typu voda v oleji a olej ve vodě.

V patentu Spojených států amerických č. 4 784 845 z 15. listopadu 1988 a č. 4 816 247 z 29. března 1989 se popisují farmaceutické prostředky pro parenterální podání hydrofobních účinných látek ve formě emulze.

V japonské patentové přihlášce č. 55017328 se popisují emulze typu voda v oleji a olej ve vodě s obsahem insulinu pro perorální podání.

Podstata vynálezu

Předmětný vynález se týká farmaceutického prostředku, jehož podstata spočívá v tom, že sestává z mikroemulze obsahující hydrofilní fázi a hydrofobní fázi, přičemž

(A) hydrofilní fáze je dispergována v hydrofobní fázi,

(B) hydrofilní fáze obsahuje biologicky účinný materiál, a

(C) hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál z něhož se chylomikrony tvoří *in vivo*.

Uvedená hydrofilní fáze výhodně obsahuje rozpouštědlo mísitelné s vodou. Hydrofobní fáze s výhodou obsahuje chylomikrony vystrážené ze séra člověka, vepře nebo skotu vinylovým polymerem.

V tomto farmaceutickém prostředku hydrofobní fáze

výhodně obsahuje materiál, který tvoří chylomikrony ve střevní sliznici, přičemž tento materiál obsahuje materiál vytvářející matrici chylomikronů, fosfolipid a lipofilní povrchově aktivní činidlo. Uvedený materiál vytvářející matrici chylomikronů obsahuje výhodně cholesterol. Jako fosfolipid obsahuje tento farmaceutický prostředek výhodně lecitin, přičemž lipofilní povrchově aktivní činidlo výhodně obsahuje mastné kyseliny obsahující 16 až 24 atomů uhlíku, esterifikované ve formě esterů glycerolu.

Ve výhodném provedení tento farmaceutický prostředek obsahuje ester cholesterolu. Rovněž výhodně obsahuje tento farmaceutický prostředek apoprotein.

Uvedená hydrofobní fáze obsahuje ve výhodném provedení rozpouštědlo mísitelné s hydrofobní fází.

Kromě toho tento farmaceutický prostředek obsahuje výhodně hydrofilní povrchově aktivní činidlo s hodnotou hydrofilně-lipofilní rovnováhy alespoň 17, přičemž tímto hydrofilním povrchově aktivním činidlem je výhodně polyethylenglykolmonostearát.

Podle dalšího výhodného provedení obsahuje tento farmaceutický prostředek lipofilní povrchově aktivní činidlo jehož hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy je maximálně 10, přičemž tímto lipofilním povrchově aktivním činidlem je glycerolmonooleát.

Dále tento farmaceutický prostředek obsahuje alespoň jednu složku ze skupiny zahrnující inhibitor proteázy, stabilizátor biologicky účinného materiálu, emulgační prostředek, stabilizační prostředek a/nebo plastifikační

prostředek a/nebo konzervační prostředek.

V konkrétním výhodném provedení tohoto farmaceutického prostředku hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecitin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 10 % objemových, lipofilní povrchově aktivní činidlo v množství 0,5 % až 95 % objemových, případně cholesterolester v množství až 5 % objemových, případně neesterifikovanou mastnou kyselinu v množství až 50 % objemových a případně apoprotein v množství až 4 % objemová.

Výše uvedený biologicky účinný materiál je s výhodou bílkovinnové povahy, přičemž tento biologicky účinný materiál obsahuje insulin, interferon-gamma nebo interferon-beta, nejvýhodněji ovšem tento biologicky účinný materiál obsahuje insulin.

Podle dalšího konkrétního výhodného provedení farmaceutického prostředku hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecitin nebo jiný fosfolipid v množství 4 % až 10 % objemových, lipofilní povrchově aktivní činidlo v množství 50 % až 95 % objemových, případně cholesterolester v množství až 5 % objemových, případně neesterifikovanou mastnou kyselinu v množství až 2 % objemová a případně apoprotein v množství až 4 % objemová.

Biologicky účinný materiál obsahuje výhodně kalcitonin nebo erythropoietin, případně je tímto biologicky účinným materiálem kalcitonin lososa. Podle dalších výhodných provedení může být tímto biologicky účinným materiálem růstový hormon nebo somatotropin, tkáňový aktivátor

plasminogenu nebo faktor VIII, přičemž ještě výhodněji je tímto biologicky účinným materiálem je somatotropin vepře.

Podle dalšího výhodného provedení tohoto farmaceutického prostředku hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 7 % objemových, lipofilní povrchové aktivní činidlo v množství 0,5 % až 5 % objemových, případně cholesterolester v množství až 5 % objemových, případně neesterifikovanou mastnou kyselinu v množství až 44 % objemová a případně apoprotein v množství až 4 % objemová.

Podle dalšího výhodného provedení tohoto farmaceutického prostředku hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 40 % objemových, lipofilní povrchové aktivní činidlo v množství 10 % až 70 % objemových, případně cholesterolester v množství až 5 % objemových, případně neesterifikovanou mastnou kyselinu v množství až 5 % objemových a případně apoprotein v množství až 5 % objemových.

Tento farmaceutický prostředek má výhodné pevnou formu a obsahuje pevnou nosičovou látku opatřenou povlakem tvořeným mikroemulzí, přičemž touto pevnou nosičovou látkou je ve výhodném provedení vápenatá sůl karboxymethylcelulozy, hydroxypropylceluloza, alginát sodný, želatina, zesířený polyvinylpyrrolidon, erupční rýže nebo polystyren. Podle konkrétního výhodného provedení tento pevný nosičový materiál obsahuje vápenatou sůl karboxymethylcelulozy v množství 20 % až 60 % hmotnostních, kyselinu alginovou v množství 5 % až 25 % hmotnostních, želatinu v množství

2 % až 20 % hmotnostních, hydroxypropylcelulozu v množství 20 % až 60 % hmotnostních, a povrchově aktivní činidlo v množství 0,1 % až 20 % hmotnostních.

Uvedený pevný nosičový materiál může mít výhodně nutriční hodnotu, přičemž ještě výhodněji je tento pevný nosičový materiál bílkovinové povahy. Tento materiál bílkovinové povahy obsahuje výhodně prášek ze sojových bobů.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu je ve výhodném provedení ve formě s enterosolventním povlakem, přičemž rovněž výhodně má pevnou formu a enterosolventní ochranný povlak je tvořen ftalátem hydroxypropylmethylcelulozy.

Tento farmaceutický prostředek může být rovněž výhodně ve formě kapsle, přičemž vnější vrstva kapsle obsahuje tvrdou želatinu. Tato vnější vrstva z tvrdé želatiny je výhodně opatřena enterosolventním povlakem ftalátu hydroxypropylmethylcelulozy.

Do rozsahu předmětného vynálezu rovněž náleží postup přípravy želatinové kapsle opatřené enterosolventním povlakem obsahující farmaceutickou formulací podle některého z výše uvedených provedení, při kterém se nejprve na kapsli uloží povlak z materiálu schopného chránit želatinovou vrstvu kapsle od nepříznivých účinků methylenchloridu, načež se takto chráněná kapsle opatří povlakem ftalátu hydroxypropylmethylcelulozy za použití roztoku tohoto ftalátu hydroxypropylmethylcelulozy v methylenchloridu.

Ve výhodném provedení tohoto postupu první ochranný povlak obsahuje směs polyvinylpyrrolidonu a hydroxypropylmethylcelulozy.

Do rozsahu předmětného vynálezu náleží rovněž postup přípravy perorálně nebo rektálně přijatelného prostředku podle některého z výše uvedených provedení, přičemž tento postup zahrnuje :

(a) rychlé smíchání biologicky účinného materiálu ve vhodném hydrofilním rozpouštědle s hydrofobní fází, která obsahuje lipofilní povrchově aktivní činidlo, a případně jeden nebo více následujících stupňů :

(b) přidání hydrofilní povrchově aktivní látky a další rychlé promísení,

(c) vedení této směsi mikrofluidizačním zařízením,

(d) povlečení pevného nosičového materiálu touto formulací, a

(e) granulování povlečeného pevného nosičového materiálu.

Tento postup výhodně zahrnuje stupeň (b), ve kterém se získaná směs nechá projít celkem třikrát tímto mikrofluidizačním zařízením.

Výhodně rovněž tento postup zahrnuje stupeň (d), ve kterém se pevný nosičový materiál opatří povlakem rozprašováním, přičemž nanášení povlaku rozprašováním se ve výhodném provedení provádí ve fluidní vrstvě. Použitý fluidizační plyn se výhodně zahřívá v případě, že teplota fluidní vrstvy klesne pod 24 °C a ochlazuje se v případě, že teplota fluidní vrstvy vystoupí nad 34 °C. Toto povlékání rozprašováním se výhodně provádí při teplotě 29 ± 5 °C. Rovněž je výhodné, jestliže se toto povlékání rozprašováním provádí přerušovaně.

Podle dalšího výhodného provedení zahrnuje tento

postup stupeň (d), ve kterém se povlečené částice nosičového materiálu granulují. Dalším výhodným provedením je postup, který zahrnuje stupeň (d), ve kterém se povlečené částice nosičového materiálu opatří enterosolventním povlakem.

Předmětem vynálezu je tedy farmaceutický prostředek, který má lepší vlastnosti než až dosud známé farmaceutické prostředky, a který je možno podávat perorálně nebo rektálně. Bylo totiž neočekávaně zjištěno, že bílkovinné látky, které až dosud bylo možno podávat pouze parenterálně je možno podávat perorálně nebo rektálně jako složku dvoufázového systému, který sestává z hydrofobní fáze, která obsahuje chylomikrony nebo materiál, z něhož se tyto útvary vytvářejí na okrajích sliznic *in vivo*. Účinná látka se při spojení s těmito materiály stává biologicky dostupnou při stejné biologické účinnosti, přičemž někdy je dostupnost účinného materiálu ještě zvýšena. Přesto že příčina těchto účinků je zatím nejasná, dochází patrně k tomu, že biologicky účinné látky v případě podání ve spojení s chylomikrony nebo jejich součástmi jsou cíleně přiváděny k vřetům a mikrovřetům střevní stěny, odkud se dostávají do lymfatického céva a jím do *ductus thoracicus* a jím do krevního řečiště.

Předmětem vynálezu je tedy farmaceutický prostředek, sestávající z mikroemulze, která obsahuje hydrofilní fázi a hydrofobní fázi, přičemž (A) hydrofilní fáze je dispergována v hydrofobní fázi, (B) hydrofilní fáze obsahuje biologicky aktivní materiál a (C) hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál, z něhož se tyto útvary vytvářejí *in vivo*. Hydrofilní fáze může obsahovat fyziologicky kompatibilní rozpouštědlo pro biologicky účinný materiál, například vodu.

Vynález se tedy týká farmaceutického prostředku pro perorální nebo rektální podání s obsahem biologicky účinného materiálu, sestávající z mikroemulze typu voda v oleji, přičemž vodná nebo hydrofilní fáze emulze obsahuje biologicky účinný materiál a olejová nebo hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál, z něhož se tyto útvary mohou vytvářet ve střední sliznici po podání tohoto prostředku.

Biologicky účinný materiál ve farmaceutických prostředcích podle vynálezu je vstřebáván. Výhodné jsou prostředky pro perorální podání, v některých případech však může být vhodné také použití prostředků pro rektální podání.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu se tedy zásadně liší od svrchu popsaných známých prostředků. V mezinárodní zveřejněné patentové přihlášce WO č. 8701035 se sice popisuje, že obsažené pseudomicely jsou podobné přírodním chylomikronům, avšak prostředek není možno podávat perorálně. Účinnou látku není možno perorálně podávat z toho důvodu, že by nebyla biologicky dostupná v případě perorálního podání vzhledem k nepřítomnosti povrchové aktivní látky s nízkou hodnotou HLB. Pevné prostředky podle zveřejněné mezinárodní patentové přihlášky WO 8705505 nevytváří vstřebatelné chylomikrony z téhož důvodu, přičemž účinná látka je v tomto případě patrně vstřebávána pinocytosou. Prostředky z známé z patentu Spojených států amerických č. 4 849 405 mají vodnou povahu a nejde o skutečné dvoufázové systémy, sestávající například z oleje a vody, takže povaha těchto prostředků je zcela odlišná. Žádný z dosud známých prostředků nepopisuje možnost podávání nebo tvorby útvarů typu chylomikronů.

Pod pojmem "biologicky účinný materiál" se zejména rozumí farmaceuticky účinné bílkovinné materiály. Může jít o materiály, které jsou čistými bílkovinami nebo o materiály, které bílkovinu obsahují, může například jít o glykoprotein, který obsahuje jak bílkovinu, tak zbytky cukru. Tímto materiálem může být materiál použitelný v lidském nebo veterinárním lékařství k léčbě nebo prevenci různých onemocnění nebo jejich příznaků, nebo může jít o materiál použitelný kosmeticky nebo diagnosticky. Příkladem biologických materiálů bílkovinné povahy, které by bylo možno zpracovat do uvedených farmaceutických prostředků pro perorální nebo rektální podání mohou být bílkovinné hormony, například insulin, kalcitonin a růstový hormon, a to lidského nebo živočišného původu, semisyntetický nebo úplně syntetický, dále erythropoetin, aktivátory plasminogenu a jejich prekurzory jako t-PA, urokináza, prourokináza a streptokináza, interferony včetně lidského interferonu α , interleukiny včetně IL-1, IL-2, IL-3, IL-4 a IL-5 a krevní faktory včetně faktoru VIII.

Přesto že patrně neexistuje žádné zvláštní omezení molekulových rozměrů biologicky účinných materiálů, schopných formulování do těchto farmaceutických prostředků, je z uvedených příkladů zřejmé, že farmaceutické prostředky tohoto typu jsou zvláště vhodné pro podávání makromolekulárních látek. Molekulová hmotnost těchto makromolekul může být vyšší než 1000 nebo vyšší než 5000, přičemž může být rovněž vyšší než 10 000 nebo i vyšší než 15 000. I když se má za to, že hydrofilní nebo hydrofobní (lipofilní) povaha biologicky účinného materiálu není kritickou hodnotou, umožňuje vynález zvláště podávání hydrofilních molekul, jako jsou insulin, kalcitonin (zvláště

kalcitonin lososa), dále růstové hormony nebo somatotropiny, zvláště somatotropin vepře, přičemž tyto látky, zejména kalcitonin lososa jsou tak hydrofilní, že jsou hygroskopické.

Množství biologicky účinného materiálu v uvedených farmaceutických prostředcích podle vynálezu bude samozřejmě záviset na povaze tohoto materiálu, přičemž toto množství je takové aby z praktického hlediska bylo podávání uvedených roztoků výhodné. Měly by tedy farmaceutické prostředky tohoto typu obsahovat 1 μ g, 10 μ g, 0,1 mg nebo 1 mg/litr až 1, 10 nebo 100 g/litr.

Mikroemulze jako takové jsou samy o sobě známé, zejména se jich používá pro formulování takových jednoduchých organických molekul jako jsou herbicidy. Stejně jako makroemulze mají i mikroemulze dvě fáze, a to hydrofilní fázi a hydrofobní nebo lipofilní fázi. Je zřejmé, že termínem "hydrofilní fáze" se v textu předmětného vynálezu nemíní ta skutečnost, že v této fázi je výlučně přítomna voda a ostatní složky nejsou přítomny, spíše se tím míní to, že tato fáze je prostě hydrofilní. Obdobně se pod pojmem "hydrofobní fáze" nebo "nevodná fáze" nerozumí stav, při němž je přítomen pouze olej, tato fáze může ovšem ve skutečnosti obsahovat jakýkoliv uhlovodík nazývaný "olej", přičemž je tato fáze obecně hydrofobní. Obě fáze jsou však v podstatě kapalné.

Charakteristickými vlastnostmi mikroemulze jsou rozměr kapek a zvýšená stálost. Mikroemulze mají kapky se středním průměrem obvykle nižším než 10 μ m a často nižším než 1 nebo 2 μ m. Ve skutečnosti mají některé mikroemulze střední průměr kapek 200 nm nebo nižší. Pod pojmem "mikroemule" se v textu

předmětného vynálezu rozumí jakýkoliv dostatečně stálý dvoufázový systém, v němž je jedna fáze dispergována ve druhé fázi. Některé dvoufázové systémy, často označované jako emulze nebo makroemulze budou tedy spadat pod pojem mikroemulzu ve smyslu uvedeném významu. Průměr kapek ve v podstatě diskontinuální dispergované fázi, může být menší než 2 μm . Průměr kapek je možno měřit skanovacím elektronovým mikroskopem, světelným mikroskopem ve fázovém kontrastu, měřením vodivosti, laserem nebo jiným vhodným způsobem. Pod pojmem "kapka" se rozumí útvar, který vytváří diskontinuální fázi.

Stabilita mikroemulze je prokázána skutečností, že tato mikroemulze nemá tendenci k rozdělování na dvě fáze v případě stání. Stálost je "dostatečná" v případě, že umožňuje další zpracování v případě potřeby a/nebo přijatelnou dobu skladování. Mimoto mohou být některé mikroemulze průhledné nebo transparentní a často mají alespoň nepatrné zabarvení.

Objemový poměr hydrofilní fáze k hydrofobní fázi je obvykle v rozmezí 0,1 : 1 až 10 : 1, například 0,2 : 1 až 5 : 1, typicky 0,5 : 1 až 2 : 1.

Hydrofilní fáze může obsahovat rozpouštědlo, mísitelné s vodou, například k usnadnění zpracování. Může jít zejména o ethanol nebo jiné vhodné jednoduché organické rozpouštědlo. Povaha tohoto rozpouštědla bude záviset na povaze účinné složky. Hydrofilní fázi může být směs vody a rozpouštědla, například v objemových poměrech 0,5 : 1 až 2 : 1.

Ve výše uvedeném textu bylo již zmiňováno, že

hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál schopný vytvořit chylomikrony ve střevní sliznici. Chylomikrony se v přírodě vyskytují jako malé částice, které převážně obsahují tuk, obvykle přítomný v krevní plazmě, zvláště po vstřebávání tukovitých jídel. Každý z chylomikronů je možno považovat za bílkovino-lipidový komplex, jehož hlavní lipidová složka se skládá z triglyceridů s hustotou v rozmezí 0,95 až 1,006 g/cm³ a s hodnotou flotace při ultraodstředění více než 400. Tato složka tedy obsahuje 80 až 90 % monoglyceridů diglyceridů a triglyceridů, zvláště 85 až 88 % monoglyceridů, diglyceridů a triglyceridů, 5 až 19 % fosfolipidů, zvláště 6 až 9 % fosfolipidů, 1 až 3 % esterů cholesterolu, zvláště 2 % esterů cholesterolu, 0,1 až 2 % volných mastných kyselin, zvláště 1 % volných mastných kyselin a 1 až 3 % proteinu, zvláště méně než 2 % bílkovin. Z bílkovinných složek jde o apoproteiny, zejména apoproteiny A, B, C a E. Dále je třeba uvést, že k vytvoření chylomikronů ve střevě není nutné dodat zevně všechny složky, protože zdrojem některých z uvedených složek může být dodáván vlastním organismem.

Chylomikrony se tvoří ve sliznici střevní v průběhu vstřebávání triglyceridů u živočichů. Po trávení a hydrolýze mastných kyselin na monoglyceridy a po jejich interakci se žlučí za vzniku smíšených micel difundují tyto mastné kyseliny a monoglyceridy do sliznice, kde se mastné kyseliny a monoglyceridy, odvozené od triglyceridů s dlouhým řetězcem, reesterifikují na triglyceridy, které se dostávají do interakce s cholesterolem a s fosfolipidy, přičemž obě tyto látky mohou pocházet ze vstřebávané potravy nebo mohou být nové syntetizovány. Výsledné útvary kulovité povahy jsou povlákány bílkovinným povlakem, převážně apoproteinem B za vzniku chylomikronů. Estery cholesterolů nebo cholesterol

pravděpodobně působí jako matrice pro jiné nebílkovinné složky chylomikronů. Chylomikrony takto obejdou játra a jsou vylučovány lymfatickými cévami do *ductus thoracicus* a jím do oběhového krevního systému.

Chylomikrony je možno vysrážet z lidského, vepřového nebo hovězího séra vinylovými polymery, například polyvinylpyrrolidonem (PVP), extrahovány z lymfové kapaliny v *ductus thoracicus* nebo je možno je připravit synteticky. Například při přípravě z čerstvého lidského vepřového nebo hovězího séra se přidá vždy k 10 mililitrů čerstvého séra alespoň 1-25 gramů chloridu sodného a 2,5 mililitru PVP a směs se odstřeďuje po dobu 30 minut při 2500 otáčkách za minutu. Výsledný supernatant obsahuje komplex polyvinylpyrrolidonu a chylomikronů.

Chylomikrony je možno získat také z anestezizovaných hladovějících vepřů tak, že se zavede kanyla do žaludku a do průdušnice v celkové anestesi a pak se zavede kanyla do *ductus thoracicus* polyethylenovým kateetrem. Žaludeční sondou se do žaludku zvířete přivádí 250 gramů smetany každé 3 hodiny a lymfa se pak odebírá při teplotě 4°C do nádob, přičemž se do žil vstřikuje fyziologický roztok chloridu sodného. Po odebírání lymfy 12 až 18 hodin tímto způsobem se lymfa zředí na dvojnásobný objem fyziologickým roztokem chloridu sodného a pak se odstřeďuje 3 hodiny při teplotě 4°C a při 25 000 g. K supernatantu s obsahem chylomikronů se přidá poloviny původního objemu fyziologického roztoku chloridu sodného a směs se udržuje do použití při teplotě 4°C . Tento postup je modifikací postupu podle publikace Sagami a kol., *Protein, Nucleic Acid, Enzymes (Jap.)* 10, 443, 1965.

Jako další alternativa při výrobě chylomikronů přichází v úvahu postup, při němž hydrofobní fáze může obsahovat materiál, z něhož se chylomikrony vytváří ve střevní sliznici. Obecně se může jednat o následující materiály:

- cholesterol nebo jakýkoliv jiný materiál, který vytváří matici chylomikronů,
- lecithin nebo jakýkoliv jiný použitelný fosfolipid a
- lipofilní povrchově aktivní látka, například mastná kyselina s dlouhým řetězcem obsahující 16 až 24 atomů uhlíku, nasycená nebo nenasycená, popřípadě esterifikovaná glycerolem, může se tedy jednat o monoglycerid, diglycerid nebo triglycerid.

Případnou další složkou může být vhodný ester cholesterolu, například vytvořený z mastné kyseliny s dlouhým řetězcem. Kromě lecitinu (triviální název pro fosfatidylcholin) je možno užít další fosfatidylových sloučenin, například fosfatidylethanolamin (cephalin), fosfatidylserin nebo fosfatidylinositol. Další možnou látkou pro toto použití jsou fosfatidylglycerolové deriváty, například samotný fosfatidylglycerol, dále 3'-O-lysylfosfatidylglycerol a difosfatidylglycerol (cardiolipin). Je samozřejmé, že je možno použít také směsi fosfolipidů. Z lipofilních povrchově aktivních látek je výhodné použít mastné kyseliny nebo kyseliny popřípadě esterifikované za vzniku glyceridů. V tomto případě se jedná s výhodou o nasycené nebo nenasycené kyseliny obsahující 16 až 24 atomů uhlíku, jako jsou například kyselina olejová, linolová, linolenová nebo některé další vhodné kyseliny. Přesto že je možno přidat k materiálu pro tvorbu chylomikronů apoproteiny, jejich přítomnost není nezbytná. Chylomikrony se mohou vytvářet *in vivo* i když nejsou

apoproteiny k materiálu pro tvorbu chylomikronů přidávány. Přesto, že tuto skutečnost prozatím nelze s definitivní platností vysvětlit, je pravděpodobné, že apoproteiny jsou buď již připraveny nebo nově syntetizovány v případě přítomnosti materiálu, z něhož se mohou tvořit chylomikrony.

To, že prostředek, sestavený podle vynálezu obsahuje ve své hydrofobní fázi materiál schopný tvořit po podání ve střevní sliznici chylomikrony, je možno stanovit snadno jednoduchým způsobem. Postupuje se tak, že se prostředek zavede do dvanácterníku vepře a současně se sledují hladiny insulínu nebo jiného biologicky aktivního materiálu v lymfě, portální krvi a periferní žilní krvi. Statistický význam mají zvýšené hladiny insulínu v lymfě a nikoliv v portální krvi, čímž se potvrzuje, že materiál byl vstřebán přes lymfatický systém a nikoliv přes portální oběh. Hladina insulínu v lymfě může být dvakrát, pětkrát, desetkrát, padesátkrát nebo až stokrát vyšší než jeho hladina v portální oběhu. Podrobnější vysvětlení bude ještě podáno v příkladové části přihlášky, postup je možno provádět přesně podle uvedeného popisu nebo v případě potřeby s různými modifikacemi.

Hydrofobní fáze, schopná tvorby chylomikronů ve střevní sliznici, může, jak již bylo uvedeno, obsahovat jako základní složky minimálně následující složky:

- cholesterol nebo jakýkoliv jiný materiál, který je schopen vytvářet matici chylomikronů,
- lecitin nebo jakýkoliv jiný použitelný fosfolipid a
- lipofilní povrchové aktivní látka.

Zásadně existují tři cesty, jimiž mohou být materiály vstřebávány střevní stěnou. Malé hydrofilní, ve vodě

rozpuštěné chemické látky jako cukry jsou vstřebávány přímo střevní sliznicí, přenášeny do kapilárního oběhu a pak do portální žíly. Lipidy, jakož i lipofilní látky se zásadně mohou vstřebávat dvěma odlišnými způsoby. Mastné kyseliny, které mají poměrně krátké uhlíkové řetězce, například o dvou až šesti nebo osmi uhlíkových atomech, se mohou vstřebávat přímo působením enzymů a žlučových solí nebo pankreatické lipázy. Takto vstřebované mastné kyseliny se dostávají do kapilárního krevního oběhu a do portální žíly. Lipidy a mastné kyseliny, které mají delší řetězce, například kyselina olejová a dioleáty a trioleáty glycerolu, stejně jako cholesterol a fosfolipidy se vstřebávají střevní sliznicí mechanismem, který až dosud není zcela objasněn. Jakmile se však tyto látky nacházejí ve střevní sliznici, účastní se tvorby chylomikronů a v této formě jsou přiváděny do lymfy a pak do *ductus thoracicus* a nakonec do krevního oběhu.

V dalším popisu budou uvedeny obecně použitelná a výhodná hmotnostní množství složek materiálů, které vytváří chylomikrony za předpokladu, že celkové množství nepřesáhne 100 %. Může jít o hmotnostní nebo objemová procenta, v některých případech o množství v gramech/100 mililitrů.

látko	širší rozmezí	výhodné rozmezí
cholesterol (nebo jiná matrice)	0,1 - 99,9	0,5 - 5
lecithin (nebo jiný fosfolipid)	0,1 - 99,9	0,5 - 10
lipofilní povrchově aktivní činidlo	0,1 - 99,9	0,5 - 95
ester cholesterolu	0 - 10	0 - 5
neesterifikované mastné kyseliny	0 - 75	0 - 50
apoprotein	0 - 10	0 - 4

Podle předmětného vynálezu bylo zjištěno, že v těchto širších výhodných rozmezích může mít hydrofobní fáze určité výhodné složení, které je charakteristické pro některé biologicky aktivní materiály. Například v případě insulínu (a také v případě interferonů, například v případě lidských interferonů beta a gama) jsou výhodná následující užší rozmezí:

látká	širší rozmezí	výhodné rozmezí	optimální hodnota
cholesterol (nebo jiná matrice)	0,5 - 5	0,5 - 2	1
lecitin (nebo jiný fosfolipid)	4 - 10	7 - 9	8
lipofilní povrchově aktivní činidlo	50 - 95	80 - 90	86
ester cholesterolu	0 - 5	0 - 4	3
neesterifikované mastné kyseliny	0 - 2	0 - 1	0
apoprotein	0 - 4	1 - 3	2

Pro kalcitonin lososa (a také pro erythropoetin), jsou výhodná následující rozmezí:

látka	širší rozmezí	výhodné rozmezí	optimální hodnota
cholesterol (nebo jiná matrice)	0,5 - 5	1,5 - 4	2,7
lecitin (nebo jiný fosfolipid)	0,5 - 7	1,5 - 4	3,3
lipofilní povrchové aktivní činidlo	0,5 - 5	1 - 3,5	2,4
ester cholesterolu	0 - 5	0 - 1	0
neesterifikované mastné kyseliny	0 - 45	1 - 35	21
apoprotein	0 - 4	0 - 1	0

V případě somatotropinu vepře (a také v případě aktivátoru plasminogenu z tkání a faktoru VIII) jsou výhodná následující rozmezí:

látko	širší rozmezí	výhodné rozmezí	optimální hodnota
cholesterol (nebo jiná matrice)	0,5 - 5	0,5 - 2	1
lecitin (nebo jiný fosfolipid)	5 - 40	10 - 25	16
lipofilní povrchově aktivní činidlo	10 - 70	20 - 45	31
ester cholesterolu	0 - 5	0 - 1	0
neesterifikované mastné kyseliny	0 - 5	0 - 1	0
apoprotein	0 - 5	0 - 1	0

K usnadnění zpracování může prostředek podle předmětného vynálezu obsahovat ještě malé množství organického rozpouštědla, mísitelného s hydrofobní fází. Povaha tohoto rozpouštědla bude záviset na dalších složkách. Často je výhodný ethanol. Množství tohoto rozpouštědla se může pohybovat například v rozmezí 5 až 50 % objemových, vztaženo na objem olejové fáze.

K vytvoření mikroemulzí je někdy zapotřebí použít dvou různých povrchově aktivních činidel, z nichž jedno je

hydrofilní a má vysokou hodnotu hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB) a druhé je lipofilnější a jeho hodnota HLB je nízká. Hodnota HLB znamená vlastně podíl hydrofilních skupin povrchově aktivní látky, vyjádřený jako procenta hmotnostní molekuly povrchově aktivní látky, a vydělený pěti. Úplně hydrofilní molekula, například polyethylenglykol má tedy teoreticky maximální hodnotu HLB přibližně 20.

Hydrofilní povrchově aktivní činidla, v případě že se používají při výrobě uvedených prostředků mají velmi vysokou hodnotu HLB alespoň 17, s výhodou blíží se hodnotě 20. Lipofilní povrchově aktivní činidla, použitá v předmětného vynálezu s nízkou hodnotou HLB mají tuto hodnotu například nižší než 10. Ve výhodném provedení mají tyto lipofilní povrchově aktivní látky hodnotu HLB nižší než 7 nebo dokonce nižší než 4.

Jako obecné vodítko je možno uvést to, že je výhodné, aby každé z použitých povrchově aktivních činidel bylo voleno ze skupiny povrchově aktivních látek, označovaných jako aniontové nebo neiontové povrchově aktivní látky. Tyto povrchově aktivní látky jsou zvláště vhodné ve farmaceutických systémech pro jejich dobrou kompatibilitu, stabilitu a prakticky nulovou toxicitu. Jako příklad povrchově aktivních látek, obecně vhodných pro použití ve výše uvedených prostředcích podle vynálezu, je možno uvést například mastné kyseliny s dlouhým řetězcem obsahujícím 16 až 24 atomů uhlíku, například kyselinu palmitovou, stearovou a olejovou, dále estery těchto kyselin, například palmitát sodný, stearát sodný a oleát sodný, dále laurylsulfát sodný, polyethylenglykol, alkylethery polyethylenglykolu, estery mastných kyselin s polyethylenglykolem, například monostearát nebo distearát

polyethylenglykolu, propylenglykol, estery mastných kyselin s propylenglykolem, například propylenglykol monostearát, glycerol, monoglyceridy nebo polyglyceridy mastných kyselin, například glycerylmonostearát, dále estery, ethery a aminy polyoxyethylen-mastných kyselin, například polyoxyethylen mono- a distearát, polyoxylaurylether, polyoxyethylensorbitanové estery, například polyoxyethylensorbitanmonolaurát, -monopalmitát, -monostearát nebo -monooleát, dále polyoxyethylenalkylfenoly a alkylfenylethery, polyoxyethylen-ricinový olej, estery mastných kyselin se sorbitanem, polysorbáty, stearylamin, triethylanoleát, rostlinné oleje, například olej ze sezamových semen nebo kukuřičný olej, cholesterol a tragakant.

Zvolenými povrchově aktivními látkami budou samozřejmě taková povrchově aktivní činidla, která se nacházejí v lékopise mezi povrchově aktivními látkami povolenými pro farmaceutické použití a mají příslušné nízké hodnoty LD₅₀. Dále je uvedena řada příkladů povrchově aktivních látek spolu s jejich hodnotami HLB, a pokud jsou známy, jsou uvedeny také hodnoty LD₅₀.

T a b u l k a

Povrchové aktivní látky s vysokou hodnotou HLB

sloučenina	HLB	LD ₅₀ (g/kg)
Polyethylenglykolové estery:		
polyethylenglykolmonostearát	19,1	
Polyoxyethylované glykolmonoethery:		
polyoxyethylen (23) lauryl-ether	17,0	9
Polyoxyethylované mastné kyseliny:		
POE (40) laurová kyselina	17,9	
POE (100) laurová kyselina	19,1	
POE (40) olejová kyselina	17,4	
POE (100) olejová kyselina	18,8	
POE (40) stearová kyselina	17,8	
POE (50) stearová kyselina	17,9	>25
POE (100) stearová kyselina	18,8	25

POE = polyoxyethylen

T a b u l k a (pokračování)
Povrchové aktivní látky s nízkou hodnotou HLB

sloučenina	HLB	LD ₅₀ (g/kg)
Estery glycerolu:		
glycerolmonooleát	3,8	
Polyoxyethylované glykolmonoethery:		
POE (4) lauryl ether	9,5	9
POE (2) cetylexer	5,3	22
POE (2) stearylexer	4,9	>25
POE (2) oleylexer	4,9	25
Poloxyethylované mastné kyseliny:		
POE (4) laurová kyselina	9,3	
POE (4) olejová kyselina	7,7	
POE (4) stearová kyselina	7,7	

T a b u l k a (pokračování)
Povrchově aktivní látky s nízkou hodnotou HLB

sloučenina	HLB	LD ₅₀ (g/kg)
Estery mastných kyselin se sorbitanem:		
sorbitanmonolaurát	8,6	41
sorbitanmonopalmitát	6,7	>16
sorbitanmonostearát	4,7	31
sorbitantristearát	2,1	>16
sorbitanmonooleát	4,3	>40
sorbitanseskviroleát	3,7	
sorbitantrioleát	1,8	>40
sorbitanmonoisodearát	4,7	
Polyoxyethylované estery mastných kyselin se sorbitanem:		
POE (4) sorbitanmonostearát	9,6	>40
POE (5) sorbitanmonooleát	10,0	>37

T a b u l k a (pokračování)
Povrchově aktivní látky s nízkou hodnotou HLB

sloučenina	HLB	LD ₅₀ (g/kg)
Polyoxyethylovaný ricinový olej:		
POE (10) ricinový olej	6,3	
POE (10) hydrogenovaný ricinový olej	6,3	
Poloxamery:		
POE (7) - POP (17) (L42)	8	
POE (4) - POP (23) (L61)	3	
POE (10) - POP (23) (L62)	7	
POE (27) - POP (23) (L64)	7	
POE (6) - POP (30) (L81)	2	
POE (19) - POP (37) (L92)	5,5	
POE (8) - POP (43) (L101)	1	
POE (32) - POP (43) (P103)	9	
POE (10) - POP (53) (L121)	0,5	

Je třeba uvést, že při výrobě uvedených farmaceutických prostředků je často možno použít směs povrchově aktivních látek místo jediného povrchově aktivního činidla. Například místo jednoho hydrofilního povrchově aktivního činidla je možno užít směs dvou nebo většího počtu relativně hydrofilních povrchově aktivních látek, přičemž ovšem účinná hodnota HLB v této směsi by měla být vyšší než 17. Tímto termínem "účinná hodnota HLB" se míní to, že hydrofilně-lipofilní rovnováha směsi povrchově aktivních látek má být ekvivalentní hodnotě pro jedinou povrchově aktivní látku s hodnotu HLB vyšší než 17. Podobně je možno užít směs lipofilních povrchově aktivních látek místo jediné lipofilní povrchově aktivní látky, přičemž v tomto případě by měla být účinná hodnota HLB této směsi lipofilních povrchově aktivních látek nižší než 10.

Výběr použitého množství povrchově aktivní látky může provést každý odborník pracující v daném oboru. Je zřejmé, že přesné optimální množství bude v každém jednotlivém případě velmi záviset na povaze použitých povrchově aktivních látek a také na povaze ostatních složek. Nicméně, jako obecné pravidlo je možno uvést, že množství hydrofilní povrchově aktivní látky se v případě jeho použití bude obvykle pohybovat v rozmezí 0,1 až 50 gramů/litr, s výhodou 0,5 až 25 gramů/litr, optimálně v rozmezí od 1 až 10 gramů/litr, vztaženo na celkový objem výsledného prostředku. Množství lipofilní povrchově aktivní látky již bylo podrobněji diskutováno výše při vysvětlování složení olejové fáze mikroemulze. Tento typ povrchově aktivní látky je obvykle přítomen v množství 0,1 až 100 gramů/litr, s výhodou v rozmezí od 0,5 až 50 gramů/litr, přičemž optimální rozmezí je 2 až 25 gramů/litr, přičemž uvedené hodnoty jsou opět vztaženy na celkový objem výsledného prostředku.

Obvykle není nezbytně nutné, aby prostředek obsahoval ještě další složky, avšak v řadě případů je jejich přítomnost užitečná. Jednou z dalších složek, jejichž přítomnost je často vysoce žádoucí je inhibitor proteázy, a to jako jediná sloučenina nebo jako směs většího počtu jednotlivých inhibitorů. Inhibitory proteázy, které je možno v tomto případě použít, je možno rozdělit do dvou skupin. První skupina jsou inhibitory proteázy, které omezují nebo brání rozštěpení biologicky aktivního materiálu v případě, že tento materiál je bílkovinné povahy. Tyto inhibitory proteázy působí inhibicí proteolytických enzymů v žaludečním a střevním systému, například trypsinu, chymotrypsinu a karboxypeptidázy. V případě insulinu je inhibitorem proteázy obvykle inhibitor ze skupiny enzymů nazývaných insulinázy, tato skupina zahrnuje také enzymy trans-sulfatázy. Vhodným zdrojem inhibitoru trypsinu může být materiál, extrahovaný ze sojových bobů nebo vaječného bílku (ovomukoid). V případě, že prostředek má obsahovat apoprotein, je žádoucí přidat inhibitor proteázy ke snížení degradace apoproteinu před jeho stykem se střevní sliznicí. Obecně řečeno, je možno užít podobné inhibitory proteázy jako v případě ochrany bílkovinných biologicky účinných materiálů, takže jediná proteáza může splňovat obě funkce. Množství použitého inhibitoru proteázy může stanovit každý odborník zběhlý v daném oboru, obvykle se užívá množství až 0,1 gramu/100 mililitrů nebo až 0,5 gramu/100 mililitrů.

Další případnou složkou je stabilizátor biologicky účinného materiálu. Povaha tohoto stabilizátoru bude v případě jeho použití záviset na povaze samotného biologicky aktivního materiálu. Existuje například celá řada dobře definovaných stabilizátorů insulinu, které je možno

s výhodou použít v prostředcích s obsahem insulinu podle vynálezu. Jako příklad je možno uvést hydroxypropylcelulózu (HPC), vápenaté soli a citráty. Je známo, že vápník nejen stabilizuje insulin, ale má také další příznivý účinek na zvýšení porozity buněčných membrán, takže usnadňuje vstup účinné látky do buněk střevní stěny. Množství použitého stabilizátoru opět závisí na povaze biologicky aktivní látky. Volba množství tohoto stabilizátoru bude spadat do kompetence odborníka zblhlého v tomto oboru, přičemž obvykle se používá množství 1 až 2 gramy/100 mililitrů.

Přestože prostředky podle vynálezu jsou mikroemulze, jak již bylo uvedeno, může v některých případech být požadováno přidávat emulgační prostředky, přičemž se může jednat o běžné emulgátory, které jsou používány při výrobě makroemulzi. Některé z těchto emulgátorů jsou povrchové aktivní látky, avšak povrchové aktivní látky používané k tomuto účelu nejsou omezena hodnotou HLB. Vhodnými emulgátory jsou například cholesterol, kyselina stearová, stearan sodný, kyselina palmitová, palmitát sodný, kyselina olejová, oleát sodný, glycerylmonostearát, polyoxyethylen (5) stearát, polyoxyethylen (40) stearát, polysorbát (20), polysorbát (40), polysorbát (60), polysorbát (80), propylenglykoldiacetát a propylenglykolmonostearát.

Množství emulgačních prostředků má být takové, aby napomáhalo vzniku stále mikroemulze. Přesné množství může stanovit každý odborník zblhlý v daném oboru, přičemž obvykle se tato látka používá v množství 0 až 10 gramů/100 mililitrů, například 0,1 až 5 gramů/100 mililitrů.

V případě potřeby je možno použít při výrobě prostředků podle vynálezu jeden nebo větší počet

stabilizátorů a/nebo plastifikátorů (neboli zvláčňovadel) ke snadnému získání těchto farmaceutických prostředků nebo pro jeho větší stálost při skladování. Jak již bylo uvedeno, mikroemulze se za běžných podmínek při delším stání nerozdělují na své složky, avšak v některých případech může být zapotřebí zajistit ještě vyšší stálost. Jako stabilizátor a/nebo plastifikátor je možno použít dextrin, akaciovou pryž, karboxypolymethylen a koloidní hydroxid hlinitý. Uvedené látky mohou být použity v množství až do 10 gramů/100 mililitrů, s výhodou v rozmezí 0,5 až 6,5 gramu/100 mililitrů.

Prostředky podle vynálezu mohou obsahovat různé konzervační látky. Dvěma zvláště vhodnými skupinami těchto konzervačních látek jsou antioxidační látky a antimikrobiální látky. Antioxidační látky jsou zvláště vhodné, protože chylomikrony a materiál, z něhož se tyto útvary mohou tvořit, včetně apoproteinů, mohou podléhat degradaci autooxidací. Přestože tento problém je možno vyřešit tak, že se prostředky připravují v inertní atmosféře, například v dusíkové atmosféře, tento postup je nepohodlný a nákladný, takže je často výhodnější použít chemické antioxidační látky. Mezi vhodné farmaceuticky přijatelné antioxidační látky náleží například propylgalát, butylovaný hydroxylanisol, butylovaný hydroxytoluen, kyselina askorbová nebo její sodná sůl, DL- nebo D- α - tokoferol a DL- nebo D- α - tokofenylacetát. Antioxidační činidla je možno v případě potřeby přidat v množství například do 0,1 gramu/100 mililitrů, s výhodou v rozmezí 0,0001 až 0,3 gramu/100 mililitrů.

K prostředkům podle vynálezu je možno přidávat také sezamový olej, s výhodou v čisté chemické formě, protože

tento olej má antioxidační účinek. Sezamový olej má mimoto tu další výhodu, že zlepšuje chuť a vůni prostředku, zejména pro orientální pacienty) a pacient proto lépe spolupracuje. Sezamový olej je možno přidávat v množství 0,1 až 3 gramy/100 mililitrů, s výhodou 5 až 20 gramů/100 mililitrů. Dále je možno přidávat i jiné látky, zlepšující chuť a vůni prostředku v odpovídajícím množství.

Prostředky tohoto typu je možno připravovat a udržovat za sterilních podmínek a tímto způsobem zabránit jejich mikrobiální kontaminaci. Tento postup je však poměrně výjimečný a nákladný pro perorálně používané prostředky a je tedy obvyklejší do těchto prostředků přidávat antimikrobiální látky. Tyto antimikrobiální látky je možno použít obvykle v množství až 3 gramy/100 mililitrů, s výhodou 0,5 až 2,5 gramu/100 mililitrů, může jít o-methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, fenol, kyselinu dehydrooctovou, fenylethylalkohol, benzoát sodný, kyselinu sorbovou, thymol, thimerosal, dehydroacetát sodný, benzylalkohol, kresol, p-chlor-m-kresol, chlorbutanol, fenylacetát rtuťnatý, fenylboritan rtuťnatý, fenyl dusičnan rtuťnatý a benzylalkoniumchlorid.

Vzhledem ke své termodynamické stálosti v mikroemulzi je možno kapalně prostředky podle vynálezu připravit jednoduchým smísením vodné a olejové fáze, přičemž jednotlivé fáze je opět možno připravit jednoduchým smísením jejich složek.

Jak již bylo uvedeno, vynález se rovněž týká způsobu výroby farmaceutického prostředku pro perorální podání, přičemž tento postup spočívá ve smísení jednotlivých složek výsledného prostředku.

Z kinetického hlediska by bylo praktické zajistit rychlou a účinnou tvorbu mikroemulzí, které vytvářejí prostředek podle vynálezu. Z tohoto důvodu je vhodné v průběhu přidávání nebo po smísení hydrofilní a hydrofobní fáze urychlit tvorbu mikroemulze použitím homogenizátoru, například typu Autohomomixer (Tokushu Kika Tokyo). Mimoto je možno užít i mikrofluidisačního zařízení.

Obvykle je výhodné přidat alespoň podíl nebo alespoň jednu složku hydrofilní fáze k alespoň určitému podílu, nebo k alespoň jedné, avšak s výhodou ke všem složkám hydrofobní fáze za rychlého míchání, pak je možno obvyklým způsobem přidat zbývající složky.

Jeden z výhodných postupů výroby farmaceutických prostředků podle vynálezu s obsahem hydrofilní fáze (vysoká hodnota HLB) a lipofilní fáze (nízká hodnota HLB) spočívá v tom, že se:

(a) rychle smísí biologicky účinný materiál ve vhodném vodném rozpouštědle s hydrofobní fází, která obsahuje povrchové aktivní činidlo s nízkou hodnotou HLB,

(b) přidá se povrchové aktivní činidlo s vysokou hodnotou HLB za dalšího rychlého míchání, a

(c) popřípadě se takto získaný prostředek nanese na pevný nosič.

Inhibitor proteázy je možno přidat k biologicky aktivnímu materiálu před jeho smísením s hydrofobní fází. Antioxidační činidlo je možno přidat před rychlým smísením ve stupni (a). Stabilizátor biologicky účinného materiálu je možno přidat současně se povrchové aktivní látkou s vysokou hodnotou HLB, totéž platí pro inhibitor nebo inhibitory

enzymů.

Je zřejmé, že vzhledem k tomu, že uvedené prostředky jsou mikroemulze, budou ve formě kapalné. Avšak kapalné prostředky jsou v některých případech méně vhodné než pevné prostředky, existuje však řada cest, jimiž je možno uvedené prostředky podle vynálezu zpracovat na pevnou formu nebo je možno zvolit příslušné složky tak, že při teplotě skladování jsou uvedené prostředky pevné. Tyto prostředky se obvykle opět vrátí do kapalného stavu při fyziologických teplotách a chovají se proto jako kapaliny záhy po perorálním podání. Tento přístup však nemusí být vhodný pro všechny případy. Z tohoto důvodu v případě, že je požadován pevný prostředek, je obvykle výhodné povlékat kapalný prostředek na vhodný nosič, který může mít zrnitou nebo částicovou formu. Částice však mohou být granulovány i po svém povlečení. Kapalný prostředek může být adsorbován na nosič nebo absorbován do nosiče. Tímto nosičovým materiálem je, zejména v případě farmaceutického prostředku určeného pro lidské lékařství, takový nosičový materiál, který se za fyziologických podmínek nevstřebává a dojde proto k jeho vyloučení ve stolici po průchodu žaludečním a střevním systémem. Zvláště vhodné je užít jako nosičového materiálu látky, která v žaludečním a střevním systému, zejména v tenkém střevě, bobtná a zvětšuje tak 10-krát až 200-krát svůj objem. Zvláště výhodné jsou materiály, které se rychle rozepínají, například vápenatá sůl karboxymethylcelulózy, hydroxypropylcelulóza, alginát sodný, želatina, zesítený polyvinylpyrrolidon, vhodným způsobem zpracovaná rýže a polystyren.

Zvláště vhodným pevným nosičovým materiálem, včetně rychle bobtnajících materiálů, je vápenatá sůl

karboxymethylcelulózy, která se užívá v množství 20 až 60 % hmotnostních, s výhodou 35 až 45 % hmotnostních, kyselina alginová nebo alginát sodný, užívané v množství 5 až 25 % hmotnostních, s výhodou 10 až 20 % hmotnostních, želatina, užívaná v množství 2 až 20 % hmotnostních, s výhodou 5 až 15 % hmotnostních, hydroxypropylcelulóza, která se užívá v množství 20 až 60 % hmotnostních, s výhodou 30 až 40 % hmotnostních a laurylsíran sodný nebo jiné vhodné povrchově aktivní činidlo, které je možno použít například v množství 0.1 až 20 % hmotnostních, s výhodou 1 a 10 % hmotnostních. V případě, že prostředek již neobsahuje žádné další složky, má být součet procentuálního množství všech uvedených složek 100 %.

V případě, že se prostředek podle vynálezu používá pro veterinární účely, může být nosič požitelný a může obsahovat využitelné složky potravy, například bílkoviny, uhlohydráty, tuky nebo anorganické látky. Výhodnou potravinou v tomto případě jsou bílkoviny, zvláště vhodný je prášek ze sojových bobů, takže celý prostředek může být přidáván jako vhodná složka živočišného krmiva, například pro vepře.

Kapalný prostředek je možno užít k povlékání nosiče různým způsobem, většina těchto postupů je v tomto oboru dobře známa. Vhodným postupem je například povlékání rozprašováním, například ve fluidní vrstvě. K nanesení na nosič se s výhodou užije prostředek podle vynálezu v množství 50 až 500 %, vztaženo na hmotnost povlékaného nosiče.

V případě nanášení na nosič postříkem je zapotřebí při použití kapalně mikroemulze dodržovat určitá pravidla.

Vzhledem k povaze složek hydrofobní fáze, kterou tvoří cholesterol nebo jiná matrice, lecithin nebo jiný fosfolipid a lipofilní povrchové aktivní činidlo, je zapotřebí, aby teplota kapalného prostředí nebo částic ve fluidní vrstvě nebyla příliš vysoká, jinak dochází k tomu, že olejová fáze je příliš volně tekoucí. Na druhé straně v případě, že se nanášení provádí při příliš nízké teplotě, stává se prostředek příliš viskózním pro nanášení ve fluidní vrstvě. Mimoto je také zapotřebí dbát toho, aby se již povlečené částice nosiče spolu ve fluidní vrstvě nespékaly.

Optimálních výsledků je možno dosáhnout tak, že se částice nosiče povlékají následujícími způsoby, které rovněž spadají do rozsahu předmětného vynálezu. Podle jednoho provedení se částice nosiče povlékají kapalným prostředkem s obsahem hydrofobní složky ve fluidní vrstvě, v níž se na částice nosiče kapalný prostředek nanáší postřikem, plyn, obvykle vzduch, užívaný k vytvoření fluidní vrstvy se zahřívá v případě, že teplota této fluidní vrstvy je příliš nízká a chladí se v případě, že teplota této fluidní vrstvy je příliš vysoká. Fluidizační plyny se obvykle podle dřívějších postupů podle dosavadního stavu techniky zahřívaly, protože nanášení postřikem ve fluidní vrstvě bylo až dosud prováděno při teplotě 80 °C, to znamená, že až dosud nebylo známo použití chlazeného plynu pro tento účel.

Uvedeným způsobem je možno udržet teplotu ve fluidní vrstvě v požadovaném rozmezí. Šířka tohoto rozmezí a jeho hranice budou záviset na povaze oleje v rozstříkované kapalině, dále na povaze částic nosiče a na dalších složkách kapaliny a ostatních parametrech celého postupu. Zásadně je možno uvést, že při postřiku prostředí podle vynálezu má být pro dosažení nejlepších výsledků teplota udržována na

hodnotě $29\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$, s výhodou $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vynález se rovněž týká zařízení k provádění tohoto postupu.

Podle dalšího provedení se částice nosiče povlékají prostředkem podle vynálezu, která sestává z kapaliny s obsahem oleje tak, že se částice nosiče nacházejí ve fluidní vrstvě a prostředek se na ně nanáší přerušovaným postřikem.

Časové intervaly mezi jednotlivými fázemi postřiku mohou být delší než fáze, při nichž k postřiku dochází. Postřikování může trvat jeden až 20 sekund, s výhodou 2 až 15 sekund, typicky 5 až 10 sekund. Pak dochází k intervalu bez postřiku, který trvá 5 až 40 sekund, s výhodou 10 až 30 sekund a typicky 15 až 20 sekund.

Podle vynálezu je zvláště vhodné kombinovat tento přerušovaný postřik se stabilizací teploty ve fluidní vrstvě podle svrchu uvedeného provedení. Dalšími výhodnými vlastnostmi tohoto postupu, které jej odlišují od běžného rozprašování podle dosavadního stavu techniky, jsou přerušované přivádění fluidizačního plynu do fluidizační vrstvy k odstranění částic, které mohly přilnout na stěnu komory a/nebo k jakýmkoliv použitým filtrům, zbavování fluidizačního plynu, například vzduchu, přebytečné vlhkosti, filtrace fluidizačního plynu, alespoň v částečném rozsahu k odstranění oleje, mikroorganismů nebo obou těchto složek a/nebo rotace kolem osy, situované přibližně v pravém úhlu vzhledem ke směru přívodu fluidizačního plynu k rozrušení tvořících se shluků, s výhodou bez použití mechanického míchadla, které by rotovalo paralelně se směrem přívodu fluidizačního plynu. Do rozsahu vynálezu rovněž náleží zařízení k uskutečnění tohoto provedení.

Je zřejmé, že obsah vody v hydrofilní fázi může být v průběhu nanášení na nosič snížen nebo zcela eliminován. Tímto způsobem však nedochází k odchýlení od podstaty předmětného vynálezu, protože prostředek je možno před podáváním opětně hydratovat.

Pevné prostředky podle vynálezu mohou obsahovat farmaceuticky přijatelná plniva a/nebo pojiva. Těmito látkami mohou být laktóza, mannitol, síran vápenatý, hydrogenfosforečnan vápenatý, fosforečnan vápenatý a mikrokrystallická celulóza. Vhodným pojivem může být akaciová nebo tragakantová pryž, želatina, alginát sodný, alginát vápenato-amonný, methylcelulóza, sodná sůl karboxymethylcelulózy, ethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, methylhydroxypropylcelulóza, želatina, estery polyethylenglykolu s mastnými kyselinami, polyvinylpyrrolidon, křemičitany hořečnato-hlinité a polyakrylamidy.

Většina biologicky účinného materiálu v pevném nebo kapalném prostředku podle vynálezu bez porušení přechází průchod hydrolytickým a proteolytickým prostředím v žaludku. Pro větší ochranu je možno opatřit pevné nebo kapalné prostředky podle vynálezu enterosolventním povlakem nebo je možno tyto prostředky chránit jiným způsobem. V případě kapalných prostředků je možno je smísit nebo prosté podat současně s ochrannou látkou, například ve formě kapalné směsi s triglyceridy se střední délkou řetězce, nebo je možno je plnit do enterosolventních kapslí, například z tvrdé nebo měkké želatiny, které mohou být ještě opatřeny enterosolventními povlaky, čímž se získají tablety, nebo je možno je plnit do enterosolventních kapslí. Tloušťka tohoto

povlaku na tabletách nebo kapslích může být například 0,5 až 4 μm , přesnou tloušťku může stanovit příslušný odborník. Granulá, opatřená enterosolventním povlakem, s rozměrem například 0,5 až 2 milimetry je možno povlékat bez jejich lisování na tablety. Rovněž mikrokapsle mohou být opatřeny enterosolventním povlakem. Tento povlak může obsahovat kterýkoliv z běžně užívaných materiálů pro perorální farmaceutické prostředky. Vhodné povlaky pro toto použití jsou známy například z publikace *Reming s Pharmaceutical Scieces*, 15. vydání, str. 1614 - 1615 (1975), 2. vydání, str. 116 - 117, 371 - 374 (1976 a *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, 4. vydání, sv. 7a (Springer Verlag, 1971), str. 739 - 742 a 776 až 778.

Příkladem vhodného enterosolventního povlaku může být acetylftalát celulózy, ftalát hydroxypropylmethylelulózy (HPMC-P), benzofenylsalicylát, acetosukcinát celulózy, kopolymery styrenu a kyseliny jablečné, želatina, keratin, kyselina stearová, kyselina myristová, polyethylenglykol, šelak, gluten, akrylová a methakrylová pryskyřice a kopolymery kyseliny jablečné s deriváty kyseliny ftalové. Enterosolventní materiály mohou být rozpuštěny v rozpouštědlech, například v dichlormethanu, ethanolu a vodě, ve ftalátu celulózy nebo ftalátu polyvinylacetátu. Podle vynálezu je výhodné použít jako enterosolventní povlak HPMC-P, polyethylenglykol 6 000 nebo šelak. Při povlaku z HPMC-P se prostředek rozpouští nebo rozbíjí při pH 5,5, což je hodnota, dosahovaná v lidském pyloru, uvedená látka se dodává pod obchodní značkou HP 5-5.

Zvláště výhodným způsobem podání prostředku podle vynálezu je zpracování do kapslí z tvrdé želatiny, opatřených enterosolventním povlakem. Přestože nemusí nastat

žádný problém s povlékáním těchto kapslí uvedenými materiály, někdy vznikají potíže s povlékáním kapslí z tvrdé želatiny právě výhodným povlakovým materiálem HPMC-P. Obtíž spočívá v tom, že tato látka je obvykle rozpuštěna v methylenchloridu a nanáší se ve formě tohoto roztoku, methylenchlorid však má tu vlastnost, že rozrušuje kapsle z tvrdé želatiny.

Podle dalšího provedení je tedy možno opatřit želatinové kapsle enterosolventním povlakem tak, že se kapsle nejprve opatří povlakem, která chrání kapsli před působením methylenchloridu a pak se takto chráněná kapsle opatří povlakem ftalátu hydroxypropylmethylecelulózy (HPMC-P) při použití roztoku této látky v methylenchloridu.

Ochranným "spodním povlakem" je tedy kapsle chráněna proti působení rozpouštědla, v němž je rozpuštěno optimální činidlo pro tvorbu enterosolventního povlaku.

Vhodnými dalšími ochrannými povlaky mohou být PVP-F, HPMC, AVICEL (krystalická celulóza) a HPC. HPC není však výhodný, protože nemá při aplikování dobré filmotvorné vlastnosti jako ostatní povlakové materiály. V tomto případě je možno použít i jakýkoliv jiný ochranný povlak, který neporušuje želatinovou kapsli, přičemž obvykle se tyto povlaky nanášejí například v 5 % roztoku v rozpouštědle, například ethanolu, který nenarušuje želatinu za použitých podmínek. Výběr vhodných rozpouštědel je možno poněkud rozšířit snížením teploty při povlékání, například v otáčivém bubnu nebo v pánvi z obvyklé teploty 80 °C na nižší teplotu, například 50 °C, s výhodou 40 °C a zvláště na teplotu přibližně 35 °C.

Je také možno užít směsí látek ke tvorbě tohoto spodního povlaku. Zvláště výhodná je směs PVP a HPMC. Hmotnostní poměr PVP (například PVP-F) : HPMC se může pohybovat v rozmezí 0,1 : 1 až 20 : 1, s výhodou 0,2 : 1 až 5 : 1, popřípadě 0,5 : 1. Povolávání je možno provádět při použití 1 až 10 % hmotnostních PVP-F a 2 až 20 % hmotnostních HPMC, vztaženo na celkovou hmotnost kapsle, výhodné množství je v rozmezí od 5 až 10 % hmotnostních.

HPMC-P je možno nanášet z methylenchloridového roztoku, která obsahuje například 5 gramů této látky na 100 mililitrů rozpouštědla. Povolávání může probíhat v rotačním bubnu nebo v pánvi, s výhodou při příslušné snížené teplotě. HPMC-P je s výhodou HP5-5 a množství této látky, užitá k vytvoření povlaku může představovat 5 až 40 % hmotnostních, s výhodou 15 až 25 % a zvláště přibližně 20 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost kapsle.

Prostředky podle vynálezu je možno podávat perorálně, ovšem je možno použít různých forem. Výhodou perorálně použitých prostředků je skutečnost, že obvykle není zapotřebí použít enterosolventních povlaků. Mimoto vysoké hladiny účinných látek v krevním séru ukazují, že jsou biologicky snadno rozpustné. Mimoto je možno dosáhnout velmi rychle fyziologicky výhodných koncentrací účinných látek v krevním séru.

Při rektálním podání je možno pevné nebo kapalné prostředky podávat ve formě nálevu nebo čípků. Při výrobě čípků je možno jako základní hmoty pro čípky použít kakaové máslo nebo jiný vhodný materiál.

Uvedené prostředky jsou vhodné pro podávání lidem nebo

jiným živočichům perorálně nebo rektálně a je možno je použít k léčbě cukrovky rektálním nebo s výhodou perorálním podáním prostředku podle vynálezu, v němž biologicky účinnou látkou je insulin.

Vynález se rovněž týká zpracování jednotlivých složek uvedeného prostředku tak, aby je bylo možno použít k výrobě farmaceutického prostředku pro perorální nebo rektální podání k léčbě nebo profylaxi poruch, které je možno léčit podáváním biologicky účinných materiálů.

Velmi vhodnou látkou pro toto použití je insulin který se užívá při léčbě cukrovky. Kalcitonin z lososa je možno užít k léčbě některých poruch kostního metabolismu, například v případě Pagetova onemocnění, dále v případě akutně zvýšené hladiny vápníku v krvi, k níž dochází u některých nádorů a také při osteoporóze. Somatotropin vepře je možno podávat selatům k urychlení jejich růstu a patrně také ke snížení tloušťky tukové vrstvy na hřbetě.

Příklady provedení vynálezu

Vynález bude blíže vysvětlen s pomocí následujících konkrétních příkladů provedení, které jsou ovšem pouze ilustrativní a nijak neomezují rozsah tohoto vynálezu.

Popis těchto příkladů souvisí s přiloženými výkresy, které je možno stručně popsat následovně :

Na obr. 1 je znázorněn částečný řez modifikovaným zařízením SPIR-A-FLOW, které je užito v příkladu 8.

Na obr. 2 je graficky znázorněn průtok lymfy v závislosti na čase, tak jak byl zaznamenán v průběhu biologického příkladu F.

Na obr. 3A, 3B a 3C jsou zaznamenány ve formě grafu hladiny insulínu v periferní žilní krvi, portální krvi a lymfě, tak jak byly zaznamenány v průběhu času při provádění biologického příkladu F.

P ř í k l a d 1

Kapalný prostředek s obsahem insulínu, určený pro perorální podání se připraví následujícím způsobem. Všechny použité chemické látky v tomto i dalším příkladu mají být analyticky čisté nebo alespoň použitelné pro chemické účely.

Nejprve se připraví podsměs A, která obsahuje následující složky:

Lecithin z vajčného žloutku	63,0 g
Glycerolmonooleát (smáčedlo s nízkou hodnotou HLB)	22,46 g
Cholesterol	30 g
Ethanol (95%)	100 g

Ethanol se zahřeje na 75 °C, přidá se glycerolmonooleát, lecithin a cholesterol, směs se míchá až do rozpuštění všech složek a pak se zchladí na teplotu místnosti 22 °C.

Antioxidační podsměs se připraví z následujících složek:

Propylgalát	37,5 g
Butylovaný hydroxyanisol (BHA)	25,0 g
Butylovaný hydroxytoluen (BHT)	37,5 g
Ethanol (95%)	do 100 ml

Všechny tři antioxidační složky se rozpustí v ethanolu při teplotě místnosti.

Podsměs B se připraví z následujících složek tak, že se všechny uvedené složky spolu smísí při teplotě místnosti.

Kyselina olejová (pomocný prostředek pro tvorbu emulze)	420 g
D-alfa-tokoferol (antioxidační prostředek)	30 g
Polysorbát 80 (pomocný prostředek pro tvorbu emulze)	30 g
Antioxidační podsměs	2,7 g
Kyselina askorbová (antioxidační činidlo)	1,2 g
Propylparaben (antimikrobiální látka)	1,2 g
Methylparaben (antimikrobiální látka)	6,8 g
Podsměs A	300 g
Ethanol (95%)	750 g

Podsměs C se připraví z následujících složek rozpuštěním pevných složek ve 100 ml ethanolu následným přidáním zbylého podílu ethanolu.

Insulin skotu (Bovine, 24,6 mezinárodních jednotek/mg, CP Pharmaceuticals, UK)	2,5 g
Kyselina citronová (látka pro úpravu pH a inhibici enzymů)	2,6 g
Aprotinin jako inhibitor proteinázy	200,000 KIUx15
Ethanol (95%)	do 300 ml.

Podsměs D je možno připravit z následujících složek:

Polyoxyethylen (40) stearát	
(smáčedlo s vysokým HLB)	6 g
Hydroxypropylcelulóza (stabilizátor)	30 g
Benzoát sodný jako antimikrobiální	
čínidlo	6 g
Deionisovaná voda	do 400 ml

První tři složky se rozpustí ve vodě při teplotě místnosti.

Po přípravě různých podsměsí se mikroemulze typu voda v oleji s obsahem insulinu získá z následujícího množství jednotlivých podsměsí:

podsměs B	450 ml
podsměs C	150 ml
podsměs D	150 ml

Postupuje se tak, že se podsměs C pomalu přidá k podsměsi D za současného míchání v homogenizátoru (autohomomixer) při 7500 ot/min při teplotě 20 °C. Výsledná směs se pak pomalu přidá do podsměsi B při použití téhož homogenizátoru při téže teplotě a rychlosti. Výsledná emulze se nechá pětkrát po sobě projít mikrofluidačním zařízením (model APV 15MBBA) za následujících podmínek:

Množství vzduchu: $2\text{dm}^3/\text{min}$

Tlak vzduchu: 35 MN/m^2

Teplota v chladicí komoře: $1,5\text{ }^\circ\text{C}$.

Rozměr kapiček výsledné mikroemulze je přibližně 1 mikrometr.

P ř í k l a d 2

Kapalný prostředek s obsahem insulínu pro perorální podání je možno připravit způsobem podle příkladu 1 s následujícími modifikacemi:

1. Podsměs A obsahuje 15 g cholesterolu místo 30 g cholesterolu z příkladu 1.
2. Podsměs B obsahuje 200 g podsměsi A místo původních 300 g a mimoto obsahuje ještě 150 g PVP chylomikronového prostředku.
3. Podsměs D obsahuje 6 g polyethylenglykolmonostearátu jako smáčedla s vysokou hodnotou HLB místo původního polyoxyethylen (40) stearátu.

P ř í k l a d 3

Pevný prostředek s obsahem insulinu pro perorální podání je možno připravit následujícím způsobem. Pevné jádro částic nosiče se připraví smísením následujících složek:

Vápenatá sůl karboxymethylcelulózy	200 g
Kyselina alginová	75 g
Želatina	50 g
Hydroxypropylcelulóza	175 g
Laurylsíran sodný	25 g

Jednotlivé složky se smísí při teplotě 22 °C. Zkušební vzorek prokazuje, že při ponoření do vody s teplotou 38 °C nabobtnají částice uvedené směsi na dvěstěnásobek původního objemu.

Částice jádra se pak suší ve vířivé vrstvě (GLATT) 45 minut při teplotě 29 °C. Pak se 800 g těchto částic povléká při použití 1000 ml kapalného prostředku z příkladu 1 ve vířivé vrstvě za současného sušení (SPHERONIZER, model 15, G. B. Caleva Ltd., Ascot, Berkshire).

P ř í k l a d 4

Pevný prostředek s obsahem insulínu pro perorální podání, opatřený enterosolventním povlakem je možno připravit z povlečených částic, připravených podle příkladu 3 tak, že se tyto částice opatří dalším povlakem při použití následujícího roztoku:

HPMC-ftalát	65 g
Ethanol (95%)	650 ml
Methylenchlorid	650 ml.

Částice se opatřují povlakem v odstředivém zařízení za současného postřikování.

P ř í k l a d 5

Kapsle s obsahem pevného prostředku s obsahem insulínu pro perorální podání je možno připravit tak, že se příslušné množství prostředku, připraveného způsobem podle příkladu 3 uloží do kapslí z tvrdé želatiny, velikost 0 až 4.

P ř í k l a d 6

Kapsle s obsahem insulinu, určené pro perorální podání z částic, opatřených enterosolventním povlakem je možno připravit tak, že se uloží příslušné množství pevného prostředku z příkladu 4, opatřeného enterosolventním povlakem do kapslí z tvrdé želatiny velikosti 0 až 4.

P ř í k l a d 7

Opakuje se způsob podle příkladu 1 s tím rozdílem, že v podsměsi B se jako další složka přidá ještě 16 g (20 ml) rafinovaného sezamového oleje pro farmaceutické použití a množství kyseliny olejové se sníží na 16 g, tj. na 404 g. Sezamový olej zajišťuje zvýšený antioxidační účinek a zlepšuje také chuť a vůni výsledného prostředku, zvláště pro orientální nemocné, takže se zlepšuje spolupráce nemocného.

P ř í k l a d 8

Pevný prostředek s obsahem insulinu, určený pro perorální podání je možno připravit následujícím

způsobem. Pevné částice nosiče, vytvářející jádro se připraví způsobem podle příkladu 3. 800 g částic se povléká při použití 1000 ml kapalného prostředku z příkladu 7 v modifikovaném zařízení s vířivou vrstvou za současného sušení (SPIR-A-FLOW, Freund International Ltd, Tokyo, Japonsko).

Uvedené zařízení je schematicky znázorněno v částečném řezu na obr. 1.

Na obr. 1 je znázorněno zařízení 1, které obsahuje komoru 3, do níž je přiváděn přívodem 5 fluidizační vzduch a dalším přívodem 7 je přiváděn vzduch přímo na stěnu komory 3. Vzduch z přívodu 5 je přiváděn do vstupní komory 9, z níž prochází prstencovitou štěrbinou 11 do komory 3. Prstencovitá štěrбина 11 je uložena v rotoru 13, který vytváří ploché dno komory 3. Rotor 13 vytváří mezi svým okrajem a spodní částí komory 3 další štěrbinu, kterou je přiváděn vzduch z přívodu 5 štěrbinou 15. Běžná zařízení tohoto typu mají ještě míchací zařízení, které se otáčí koaxiálně s rotorem 13, v tomto zařízení 1 však takové míchadlo není zařazeno. Místo toho je v místě, kde se toto zařízení obvykle nachází uložen konický člen 17, který slouží k ochraně rotoru 13 před příliš velkým průnikem částic z komory 3.

Radiálně je ve stěně komory 3 uloženo pomocné zařízení 19 pro rozrušování vytvořených

shluků, obvykle jde o větší počet rotujících prvků tvaru čepele.

V horní části komory 3 je uložena tryska 21 pro rozvádění kapaliny ve formě spreje do komory 3. Do trysky 21 se kapalný prostředek přivádí čerpadlem 23 ze zásobníku 25. Prostředek prochází přívodní trubicí 27, přebytečná kapalina je odváděna odvodní trubicí 29. Do trysky je přiváděn také vzduch, zajišťující příslušné rozprašování.

V horní části komory 3 je uložen pár filtrů 31, které filtrují fluidizační vzduch před jeho výstupem z komory 3. V každém filtru 31 je uložena tryska 33, určená pro přívod vzduchu, který odstraňuje částice z každého filtru 31.

Při použití jsou částice nosiče, vytvářejícího jádra ukládány do komory 3 neznázorněným otvorem, který je pak uzavřen, načež se otevře přívod fluidizačního vzduchu. Tento vzduch je přiváděn pod tlakem 980 Pa a je zbaven vody a filtrován k odstranění mikroorganismů a k odstranění olejových částic, které by mohly být přiváděny z neznázorněného kompresoru. Přiváděný vzduch má obvykle teplotu 40 °C. Fluidizační vzduch je přiváděn přívodem 5 a přes rotující síť 11 v množství 4 litry za minutu pod konečným tlakem 490 Pa a slouží k vytváření vířivé vrstvy částic nosiče v komoře. Druhý

proud vzduchu je přiváděn štěrbinou 15 rovněž v množství 4 litry za minutu, avšak při nižším tlaku 49 až 98 Pa a slouží k odstraňování částic, lnoucích ke stěně komory 3. Pomocné zařízení 19 pro rozrušování shluků se otáčí rychlostí 2500 ot/min, rotor 13 se otáčí rychlostí 250 ot/min. Konický člen 17, který je uložen koaxiálně s rotorem 13 nerotuje význačným způsobem, avšak může se pomalu otáčet, aby byla ložiska rotoru 13 udržována ve volném stavu.

Kapalný prostředek z příkladu 7 se uloží do zásobníku 25 a je přiváděn pomocí čerpadla 23 přívodním potrubím 27 do trysky 21, z níž je rozstřikován na vířící částice nosiče. Množství přiváděného prostředku je 12,2 ml za minutu, současně se přivádí vzduch neznázorněným přívodním a odvodním potrubím k zajištění správného rozstřikování. Vzduch se přivádí v množství 2,3 litry za minutu při tlaku $1,2 \text{ kg/cm}^2$.

Kapalný prostředek se rozstřikuje 10 sekund, pak se přívod prostředku na 15 sekund přeruší, avšak vzduch se přivádí kontinuálně tak, aby částice nosiče byly udržovány ve vířivé vrstvě.

V případě, že teplota uvnitř komory 3 počne stoupat nad 30°C , sníží se teplota přiváděného vzduchu z původní hodnoty 40°C na nižší hodnotu. Aby bylo možno zajistit rychlé zchlazení, užívá se neznázorněných prostředků k chlazení vzduchu tak, aby teplota

postřikovaných částic ve vířivé vrstvě v žádném případě podstatně nepřekročila 30 °C.

Postup se provádí tak dlouho, až se spotřebuje 1000 ml kapalného prostředku z příkladu 7 na 800 g povlékaných částic nosiče.

P ř í k l a d 9

Kapsle s obsahem pevného prostředku obsahujícího insulin pro perorální podání se připraví tak, že se uloží příslušné množství výsledného produktu z příkladu 8 do kapslí z tvrdé želatiny velikosti 0 až 4.

P ř í k l a d 10

K přípravě 1 litru prostředku s obsahem kalcitoninu z lososa pro perorální podání se postupuje následujícím způsobem. Nejprve se připraví hydrofilní fáze při použití následujících složek:

polyoxyethylen (40) stearát	6,7 g
benzoát sodný	12,0 g
hydroxypropylcelulóza SL	6,0 g
Aprotinin (Trasylol sol ⁿ)	200 000 KIU x 15

kyselina citronová	4,3 g
kyselina askorbová	3,2 g
deionisovaná voda	166,7 ml.

Hydroxypropylcelulóza se rozpustí v aprotininu a výsledná směs se smísí s polyoxyethylen-(40) stearátem, benzoátem sodným, kyselinou citronovou a kyselinou askorbovou. Přidá se voda a směs se mísí v homogenizátoru AUTOHOMOMIXER k rozpuštění složek. Pak se pH upraví na hodnotu v rozmezí 3,0 až 3,25 pomalým přidáním koncentrovaného roztoku kyseliny citronové a askorbové.

K výsledné hydrofilní vodné fázi se přidá kalcitonin lososa (Rorer nebo Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA), a to pomalu za stálého míchání při teplotě místnosti a při relativní vlhkosti nižší než 40 %. Přidá se dostatečné množství kalcitoninu lososa tak, aby 1 ml výsledného prostředku obsahoval 600 až 1200 mezinárodních jednotek, s výhodou 1000 těchto jednotek.

Odděleně se připraví hydrofobní fáze z následujících složek:

lecithin z vaječného žloutku	32,8 g
cholesterol	26,7 g
d-alfa-tokoferol	1,3 g
glycerolmonooleát	23,7 g
kyselina olejová	212,0 g

Tween 80	157 g
antioxidační podsměs	2,8 g
propylparaben	3,0 g
methyylparaben	20,0 g
sesamový olej pro farmaceutické použití	6,7 g
ethanol (95%)	zbytek

Postupuje se tak, že se smísí cholesterol, tokoferol, glycerylmonooleát a další složky v ethanolu, jehož objem se volí tak, aby hydrofobní fáze měla stejný objem jako hydrofilní fáze. Antioxidační roztok se připraví jako v příkladu 1, je však možno vynechat BHA a BHT. Výsledný roztok se důkladně promíchá. Je možno užít homogenizátor AUTOHOMOMIXER při 7500 ot/min a teplotě 20 °C, obvykle je však dostatečné jednoduché mechanické nebo magnetické míchání. Hydrofilní fáze se pak vlije za míchání do stejného objemu hydrofobní fáze. Také v tomto případě může být dostatečné jednoduché mechanické míchání nebo je možno použít homogenizátoru AUTOHOMOMIXER za stejných podmínek jako svrchu. Výsledná emulze se nechá trikrát po sobě projít týmž mikrofluidizačním zařízením, jakého bylo užito v příkladu 1 při použití stejných pracovních podmínek.

P ř í k l a d 11

Pevný prostředek pro perorální podání s obsahem kalcitoninu z lososa byl připraven obdobným způsobem jako v příkladu 8 s tím rozdílem, že 500 ml kapalného prostředku z příkladu 10 bylo užito k vytvoření povlaku na 400 g vápenaté soli karboxymethylcelulózy v modifikovaném zařízení SPIR-A-FLOW.

P ř í k l a d 12

Kapsle pro perorální podání s obsahem kalcitoninu z lososa ve formě pevných částic je možno připravit tak, že se uloží příslušné množství výsledného produktu z příkladu 11 do kapslí z tvrdé želatiny velikosti O až 4.

P ř í k l a d 13

Kapsle z tvrdé želatiny pro perorální podání prostředku s obsahem kalcitoninu lososa, opatřené enterosolventním povlakem je možno získat následujícím způsobem. Kapsle z příkladu 12 se povlékají v rotačním bubnu (HI-COATER) při použití 5 % PVP-F a 10 % HPMC v ethanolu.

Jde o procenta hmotností, vztaženo na hmotnost kapsle. HI-COATER je zařízení, dodávané Freund Internationa Ltd, Tokyo, Japonsko). Kapsle, které byly takto opatřeny spodním povlakem jsou pak dále povlékány 20 % hmotnostními, vztaženo na hmotnost kapsle sloučeninou HP5-5 (jde o komplex HPMCP, tvořící se při pH 5,5) v methylenchloridu. Povlékání se opět provádí v rotačním bubnu. Kapsle jsou pak vhodné pro perorální podání.

P ř í k l a d 14

Perorální prostředek pro podávání somatotropního vepře (PST) je možno připravit následujícím způsobem:

Podsměs A se připraví z následujících složek:

sojový lecithin	150 g
glycerylmonooleát	22,46 g
cholesterol	30 g
ethanol	50 ml

Postupuje se tak, že se první tři složky rozpustí v ethanolu, 75 °C teplém a směs se míchá do rozpuštění těchto složek. Pak se ethanol odpaří.

Podsměs B je možno připravit z následujících složek:

kyselina olejová	420 g
d- α -tokoferol	30 g
antioxidační podsměs z příkladu 1	2,7 g
propylparaben	1,2 g
methyylparaben	6,8 g
podsměs A	300 g
ethanol (95%)	750 g

Všechny uvedené složky se spolu smísí při teplotě místnosti.

Podsměs C je možno připravit z následujících složek:

somatotropin vepře (American Cyanamid nebo Sigma)	50 mg
aprotinin	200 000 KIU
uhličitan sodný sol ⁿ	300 ml.

Směs se připraví tak, že se jednotlivé složky spolu smísí při teplotě místnosti, pak se upraví pH na hodnotu 5,0 fosfátovým puřrem.

Podsměs D se připraví jako v příkladu 1 s tím rozdílem, že se vynechá polyoxyethylen (40) stearát.

Jakmile jsou připraveny všechny podsměsi, je možno připravit mikroemulzi s obsahem somatotropinu vepře z následujícího množství těchto podsměsí:

podsměs B	450 ml
podsměs C	150 ml
podsměs D	150 ml

Postupuje se tak, že se podsměs C pomalu přidává do podsměsi D za míchání homogenizátorem (AUTOHOMOMIXER) při 7500 ot/min při teplotě 20 °C. Výsledná směs se pomalu přidává do směsi B při použití téhož homogenizátoru při téže teplotě a rychlosti. Výsledná emulze se nechá pětkrát po sobě projít mikrofluidizačním zařízením, které bylo popsáno v příkladu 1 za týchž podmínek.

P ř í k l a d 15

Pevný prostředek pro perorální podání s obsahem somatotropinu vepře je možno připravit následujícím způsobem. Pevné částice nosiče, vytvářející jádro se nejprve připraví smísením následujících složek:

prášek ze sojových bobů	300 g
hydroxypropylcelulóza	50 g
kyselina alginová	50 g

Složky se spolu mísí při teplotě 22 °C. Vzniklé částice jádra se pak suší ve fluidizační vrstvě (GLATT) při teplotě 29 °C celkem 45 minut. Pak se užije 500 ml kapalného prostředku, připraveného podle příkladu 14 k postřiku suchých jader v modifikovaném zařízení SPIR-A-FLOW, které bylo popsáno v příkladu 8.

P ř í k l a d 16

Povlečené částice z příkladu 15 se granulují v granulačním zařízení CF (Freud Industries, Inc, Tokyo, Japonsko) na velikost částic 1,5 až 2 mm. Užívá se běžných podmínek a/nebo podmínek, doporučených výrobcem. K aglutinaci částic na granula se užije roztoku, který obsahuje přibližně 8 g hydroxypropylcelulózy L (HPC-L) na 100 ml ethanolu. Granula je pak možno opatřit enterosolventním povlakem, přičemž se užije 8 % hmotnostních HPMC-P, vztaženo na hmotnost granul, k tomuto účelu se užije roztoku, který obsahuje 5 g HPMC-P na 100 ml methylenchloridu, povlékání se provádí v pánvi nebo v bubnu. Nakonec se povlékáci zařízení užije ještě k uložení voskového povlaku na granula, opatřená enterosolventním povlakem, tak, aby granula po požití vepřem v jeho žaludku plavala na povrchu žaludečního obsahu.

P ř í k l a d 17

Postupuje se způsobem, uvedeným v příkladu 7, avšak místo insulínu skotu se užije lidského insulínu, čímž se získá odpovídající prostředek pro perorální podání s obsahem lidského insulínu. Kapalným prostředkem je možno nanést jako povlak na pevný nosič, jak bylo popsáno v příkladu 8.

P ř í k l a d 18

Postupuje se obdobným způsobem jako v příkladu 7, avšak místo insulínu skotu se užije příslušné množství lidského interferonu-gamma, čímž se získá odpovídající prostředek pro perorální podání s obsahem lidského interferonu. Tento kapalným prostředek je možno nanést na pevný nosič způsobem, který byl popsán v příkladu 8.

P ř í k l a d 19

Postupuje se obdobným způsobem jako v příkladu 7, avšak místo insulínu skotu se užije příslušné množství lidského interferonu-beta, čímž se získá

odpovídající prostředek pro perorální podání s obsahem lidského interferonu-beta. Tento kapalný prostředek je možno nanášet na pevný nosič způsobem, který byl popsán v příkladu 8.

P ř í k l a d 20

Postupuje se obdobným způsobem jako v příkladu 10, avšak místo insulínu skotu se užije příslušného množství erythropoetinu, čímž se získá odpovídající prostředek pro perorální podání s obsahem erythropoetinu. Tento kapalný prostředek je možno nanášet na pevný nosič způsobem podle příkladu 8.

P ř í k l a d 21

Postupuje se obdobným způsobem jako v příkladu 14, avšak místo insulínu skotu se užije příslušné množství tkáňového aktivátoru plasminogenu, čímž se získá prostředek pro perorální podání s obsahem tkáňového aktivátoru plasminogenu. Tento kapalný prostředek je možno nanášet na pevný nosič způsobem, který byl popsán v příkladu 8.

P ř í k l a d 22

Postupuje se obdobným způsobem jako v příkladu 14, avšak místo insulínu skotu se užije příslušné množství faktoru VIII. Tímto způsobem se získá prostředek pro perorální podání s obsahem faktoru VIII. Tento kapalný prostředek je možno nanášet na pevný nosič způsobem, popsaným v příkladu 8.

Biologický příklad A

Klinický test s perorálním prostředkem z příkladu 5

Celkem 17 diabetiků, z toho 8 závislých na insulínu a 9 nezávislých na insulínu a 1 zdravý muž jako dobrovolník se účastnili pokusu, před níž nebyla celou noc podávána žádná potrava. Alespoň 12 hodin před pokusem byla vysazena veškerá perorální hypoglykemická léčba a také injekční podávání insulínu. Každému diabetikovi byl podán perorálně prostředek s obsahem insulínu, připravený způsobem podle příkladu 5, to znamená kapsle z tvrdé želatiny, které obsahovaly částice nosiče jako jádra, opatřené povlakem emulze s obsahem insulínu, avšak nikoliv enterosolventním povlakem. Každá kapsle obsahovala přibližně

10 jednotek lidského insulinu, každému nemocnému byla perorálně podána dávka, přibližně 1 jednotka/kg hmotnosti spolu s přibližně 250 ml vody. Pak byly měřeny koncentrace cukru v krevních vzorcích, získaných ze špičky prstu při použití zařízení REFLOLUX a zkušebního balíčku HAEMOGLUKO-TEST 20-800R (Boehringer Mannheim GmbH, NSR). V několika případech byly měřeny také koncentrace insulinu v krvi radioimunologickým způsobem. Pro analýzu insulinu v krevním seru se vzorky sera uloží do zkumavek s obsahem inhibitoru proteinázy, a to aprotininu (TRASYLOL, Bayer) a pak se zkumavky až do provedení analýzy skladují při teplotě +20 až -35 °C.

Zjištěné hladiny krevního cukru jsou shrnuty v následující tabulce 1.

V tabulce 1 jsou shrnuty hodnoty krevního cukru do pěti hodin po podání perorálního prostředku podle vynálezu jak pro diabetiky, tak pro zdravého dobrovolníka.

T a b u l k a 1

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	hodnoty krevního cukru (mg/dl) v čase (h)										
				0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	
1	m	58	IDDM	254	127 ^x									
2	m	67	NIDDM	216	196		186 ⁺							
3	ž	51	IDDM	180	142									
4	m	50	IDDM	152	115		98							
5	m	68	IDDM	301	283		213 ⁺							
6	m	45	NIDDM	190			167 ⁺							
7	m	60	IDDM	173	148									
8	m	53	NIDDM	205			101							
9	ž	45	NIDDM	193		147		112					135 ⁺	
10	m	54	NIDDM	164	147		143							
11	ž	48	IDDM	209	203		173							
12	ž	54	NIDDM	154	115		96							

Tabulka 1 - pokračování

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	hodnoty krevního cukru (mg/dl) v čase (h)									
				0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5
13	m	35	NIDDM	167	162		148						
14	m	70	NIDDM	256			162 ⁺						
15	m	57	NIDDM	253		229		177					
16	m	31	zdráv	116		128		149	127			117	
17	m	40	IDDM	252	162		133						
18	m	40	IDDM	157	132	118	61	60 ^x	75				89

^x šok, indukovaný insulinem

⁺ resistantní na podkožně podaný insulin v dávce 5 až 20 jednotek.

Někteří nemocní nereagovali dobře na podkožně podaný insulin, specificky šlo o případy 2, 5, 6, 10 a 14. Tito nemocní měli následující krevní hladiny cukru po podkožně podaném insulinu.

T a b u l k a 2

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	jednotky insulinu s.c.	cukr v krvi (mg/dl) v čase (h)			
					0,5	1	1,5	2,5
5	m	58	IDDM	15	171	196	161	170
6	m	45	NIDDM	5	259		376	298
2	m	67	NIDDM	20	216	196	186	180
10	m	54	NIDDM	20	330		180	
14	m	70	NIDDM	20	312	162		

Výsledky ukazují, že prostředek, připravený způsobem podle příkladu 5, bez enterosolventního povlaku na částicích je účinný, pokud jde o snížení zvýšené hladiny cukru v krvi na lačno, tyto hladiny snižuje na alespoň přibližně normální hodnoty cukru v krvi u všech diabetiků, s nimiž byl pokus prováděn, s výjimkou jediného případu č. 11, kde nebylo možno považovat dosažené snížení hladiny cukru v krvi klinicky za statisticky významné. U zdravého dobrovolníka nedošlo po perorálním podání prostředku

z příkladu 5 k žádné změně hladiny krevního cukru. Ve dvou případech, a to v případech 1 a 18 došlo k hypoglymekickému šoku, vyvolanému insulinem po 75 až 120 minutách po perorálním podání prostředku, připraveného způsobem podle příkladu 5, tento šok bylo možno zvládnout podáním 100 g cukru ve vodě.

V několika málo případech byly odebrány vzorky z krevního sera před perorálním podáním prostředku, získaného způsobem podle příkladu 5 a po jeho perorálním podání. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce 5.

T a b u l k a 3

Hodnoty insulinu v seru v mikrojednotkách/ul a krevního cukru v mg/dl po perorálním podání kapslí z příkladu 5.

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	sledovaná hodnota	hladiny insulinu a cukru v čase (h)						
					0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0 5,0
10	m	54	NIDDM	insulin	20	198			106		76
				cukr	(166)	(151)			(145)		(134)
+ po podání 20 jednotek insulinu podkožně				insulin	24	19			11	15	14
				cukr	(157)	(102)		(77)		(106)	
18	m	40	IDDM	insulin	6	160	140	106	58	50	46
				cukr	(157)	(132)	(118)	(61)	(60)	(75)	(89)
+ po podání 15 jednotek insulinu podkožně				insulin	10	57			184	98	64
				cukr	(171)	(152)		(131)	(122)	(207)	

+ Insulin (Green Corss Co. Seoul, Korea) byl podán podkožně. Případ č. 18 upadl po 1,5 hodině po perorálním podání do insulinového šoku (kapsle z příkladu 5), šok bylo možno zvládnout perorálním podáním 100 g cukru ve vodě.

Biologický příklad B

Klinický pokus s perorálním podáním prostředku z příkladu 1

Příslušné množství mikroemulze bylo podáváno v kapalně formě perorálně spolu s 10 ml MCT (MCT je název roztoku s obsahem triglyceridů se střední délkou řetězce (Mead-Johnson a Co. Evansville, Indiana, USA). Prostředek s obsahem MCT mikroemulze se chová tak, jako by mikroemulze s obsahem insulinu byla opatřena enterosolventním povlakem. Každý ml prostředku s obsahem insulinu obsahoval přibližně 5 jednotek insulinu skotu.

Pokus byl prováděn s 12 diabetiky (9 IDDM a 3 NIDDM) a s jedním zdravým mužem jako dobrovolníkem. Hladiny cukru byly měřeny ráno na lačno, 12 hodin před pokusem byla vynechána perorální hypoglykemická léčba i insulin. Každému nemocnému byla podána jedna jednotka insulinu na 1 kg hmotnosti v perorální formě. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce:

T a b u l k a 4

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	hladina cukru v krvi (mg/dl) v čase (h)				
				0	1	2	3	4
1	ž	46	NIDDM	190	174	167		
2	m	68	IDDM	321	144			
3	ž	52	NIDDM	161	139			
4	m	37	IDDM	207	147			
5	m	59	IDDM	307	285	173	109	
6	m	30	IDDM	244	212	202	170	
7	ž	50	IDDM	153	136			
8	m	54	NIDDM	224	205	190		
9	m	60	IDDM	153	78			
10	m	40	IDDM	157	125	110 ^x	insulinový šok	
11	m	58	IDDM	259	172	93		
12	m	35	IDDM	156	137			
13	m	31	zdráv ^{xx}	157	112	107 ^x	92	83 ^x insulinový šok

x hypoglykemický šok, vyvolaný insulinem.

xx Zdravému muži byla podána snídaně 2,5 hod. před pokusem. Vyvinul se mírný až středně těžký šok se studeným potem, hladovými kontrakcemi a inkoordinací.

Případy 1 a 8 neodpovídají dobře ani na podání 500 mg tablet perorálně (Diabensase), ani na podkožní podání 20 jednotek insulinu, jak je zřejmé z následující tabulky.

T a b u l k a 5

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	podkožní insulin/ Diabensase	hodnota krevního cukru (mg/dl) v čase (h)			
					0	1	2	3
1	ž	46	NIDDM	15 jednotek/ 500 mg	201 186	198		185 165
6	m	30	IDDM	20 jednotek	151		124	
8	m	54	NIDDM	20 jednotek/ 500 mg	218 222	200 205	194	176 174

Jenom jeden nemocný ze dvanácti špatně reagoval na perorální podání mikroemulze s obsahem insulinu. Zdravý muž reagoval dobře a vyvinul se u něho hypoglykemický šok.

V několika zkoumaných případech byly odebrány vzorky sera před podáním a po podání prostředku z příkladu 5. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 6.

T a b u l k a 6

Hladina insulínu v krevním séru v mikrojedinotkách/ml
a hladina cukru v krvi v mg/dl po perorálním podání
emulze z příkladu 1

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	zkoumaná hodnota	hladiny insulínu nebo cukru v průběhu času (h)						
					0	0,5	1	1,5	2	3	4
5	m	59	IDDE	insulin cukr	10 (307)	153 (285)		188 (173)	107 (109)	84 (-)	
11	m	58	IDDM	insulin cukr	18 (259)	204 (-)	168 (172)	80 (98)			
+ hladiny po podání 20 jednotek											
insulínu podkožně				insulin	38	159		78	45		
				cukr	(308)	(159)		(87)	(115)		

Tabulka 6 - pokračování

případ číslo	pohlaví	věk	typ diabetu	zkoumaná hodnota	hladiny insulinu nebo cukru v průběhu času (h)								
					0	0,5	1	1,5	2	3	4	5	
12	m	35	IDDM	insulin	15	68			70	50			
				cukr	(156)	(137)			(62)	(60)			
+ hladiny po podání 15 jednotek													
				insulin	30	47		112	115				
				cukr	(188)	(181)		(160)	(139)				

+ Insulin pro podkožní podání (Green Cross Co., Seoul, Korea)

byl vstříknut pokusným osobám v rozdílných dnech.

Biologický příklad C

Směs pro perorální podání, připravená způsobem podle příkladu 8 byla podávána následujícím způsobem:

Dvěma stavěcím psům s hmotností 12 až 16 kg bylo podáno v průběhu 5 minut přímo do dvanáctníku 5 ml mikroemulze s obsahem insulinu, mikroemulze obsahovala 5 jednotek insulinu skotu v 1 ml. V následující tabulce jsou uvedeny hladiny glukosy v krvi a insulinu v krevním seru po podání této mikroemulze pro oba psy.

Je zřejmé, že podání mikroemulze přímo do dvanáctníku vyvolává snížení koncentrace cukru v krvi a odpovídající vzestup koncentrace insulinu v krevním seru u obou psů, což znamená, že prostředek zajišťuje dobrou biologickou dostupnost insulinu při tomto způsobu podání, takže takto zpracovaný insulin je jak biologicky dostupný, tak biologicky účinný.

T a b u l k a 7

Hladiny glukosy a insulinu v krvi před a po podání mikroemulze s obsahem insulinu přímo do dvanáctníku psů.

zvíře	zkoumaná hodnota	koncentrace glukosy v seru v mg/dl a insulinu v seru v mikrojednotkách/ml v průběhu času (h)									
		-0,5	0	0,5	1	1,5	2	3	4	5	
A	glukosa	109,5	120,3	67,4	49,6	39,0	28,5	24,7	43,4	79,7	
	insulin	8	10	250	139	172	96	54	4	13	
B	glukosa	133,8	138,4	105,7	76,8	77,6	83,5	78,8	94,3	104,5	
	insulin	16	20	122	89	50	39	9	8	20	

Biologický příklad D

K pokusu bylo užito 6 mužů ve věkovém rozmezí 21 až 26 let, průměr 23,1 let s hmotností v rozmezí 58 až 78, průměr 66 kg, s výškou 171 až 187 cm, průměr 177,2 cm. Začátek pokusu byl prováděn na lačno. V 6 hodin ráno bylo pěti dobrovolníkům v 5 hodin ráno podáno 400 až 420 mezinárodních jednotek kalcitoninu lososa ve formě prostředku z příkladu 10, poslednímu dobrovolníkovi bylo podáno podkožně 200 mezinárodních jednotek kalcitoninu lososa (Calcynar) na lačno. Vzorky žilní krve byly odebrány v čase 0 před podáním prostředku a po 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300, 360 a 480 minutách po podání. Koncentrace fosfátu v krvi byla měřena metodou Fiske-Subarrow a koncentrace kalcitoninu lososa v krvi byla stanovena po předchozím zpracování plasmy působením EDTA radioimunologicky při použití ^{125}I a králíčího sera s obsahem protilátek proti kalcitoninu lososa. Všechna měření byla prováděna třikrát. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce 8.

T a b u l k a 8

Hladiny kalcitoninu lososa v plasmě (pg/ml)

čas (min)	A O	B O	C I	D O	E O	F O
0	10	10	10	10	10	10
30	10	10	260	102	10	10
60	10	15	170	15	21	10
90	10	10	102	10	10	190
120	130	10	10	170	10	10
150	10	86	10	11	10	10
180	460	66	68	92	68	10
210	10	180	10	66	10	66
240	10	10	10	81	10	21
300	10	10	86	10	10	10
360	10	10	10	10	10	10
480	10	10	10	10	10	10

Vysvětlivky k tabulce:

O = perorální podání

I = injekční podání

Z tabulky je zřejmé, že při perorálním podání kalcitoninu lososa v množství 400 až 420 mezinárodních jednotek ve formě prostředku z příkladu 7 dochází ke zvýšení koncentrace kalcitoninu lososa v plasmě, měřeno radioimunologickou analýzou, které odpovídá zvýšení po podání 200 mezinárodních jednotek kalcitoninu lososa podkožně.

Při podání kalcitoninu lososa perorálně ve formě prostředku z příkladu 10 dochází ke zvýšení hladina kalcitoninu lososa v lidské plasmě a ke snížení fosfátů v krevním seru u mladých mužů, účastnících se pokusu jako dobrovolníci. Po perorálním podání vyvolává kalcitonin lososa v množství 400 až 420 mezinárodních jednotek obdobnou biologickou odpověď (prokázanou jako snížení fosfátů v seru) a podobnou biologickou dostupnost/^{jako} v plasmě, zpracované působením EDTA a analyzované radioimunologicky u mužů po podání 200 mezinárodních jednotek kalcitoninu lososa podkožně. Kalcitonin lososa ve formě prostředku z příkladu 7 je tedy biologicky účinný i dostupný u člověka po perorálním podání.

Biologický příklad E

Mladým vepřům o hmotnosti 75 kg bylo podáno perorálně 500 µg somatotropinu vepře (PST) ve

formě prostředku z příkladu 16 na kg hmotnosti žaludeční sondou, dalšímu vepři s hmotností 82 kg bylo podáno 500 μ g PST perorálně do dvanáctníku enterostomií.

Krevní vzorky byly odebrány zavedenou nitrožilní kanylou v jugulární žíle a hladiny PST byly stanoveny z každého vzorku radioimunologicky. Oběma zvířatům bylo před podáním PST podáno nitrosvalově 3 dny po sobě vždy 500 ng dexamethazonu k potlačení sekrece PST in vivo, po podání PST do žaludku a dvanáctníku ve svrchu uvedené dávce bylo pak možno zaznamenávat biologickou rozpustnost této látky po 6 hodinách po podání do dvanáctníku a po 10 hodinách po podání do žaludku. Získané výsledky jsou shrnuty v následující tabulce 9.

T a b u l k a 9

Hladiny somatotropinu vepře v seru u vepřů

doba po podání (h)	hladiny PST v seru (ng/ml)	
	vepř 1 (žaludek)	vepř 2 (dvanáctník)
0	5	5
2	7	5
4	6,5	12
6	6,5	17
8	13	17
10	14	15
12	14	13
14	-	13,5
16	-	13,5

Z uvedených pokusů tedy vyplývá, že PST, po podání do žaludku nebo do dvanáctníku je biologicky dostupný.

Biologický příklad F

Tento příklad prokazuje, že insulin se z prostředku podle vynálezu vstřebává lymfatickými cestami a nikoliv "systémem pórů" sliznice, protože v tomto případě by se insulin neměl nacházet v lymfě, býbrž v portálním oběhu směrem do jater.

Fena o hmotnosti 35 kg byla anestetisována a do duodena byla po otevření stěny břišní zavedena kanyla. Kanyla byla zavedena rovněž do hlavní lymfatické cévy, odcházející z duodena a lymfa byla odebírána do válce každých 15 minut v průběhu celého pokusu. Další kanyla byla zavedena do portální žíly tak, že její otevřený hrot zasahoval až k játrům. Do pravé jugulární žíly byl zaveden katetr a do žíly na levém předloktí byla zavedena kanyla, jíž byl podáván ve formě nitrožilní infuse 10% roztok glukosy ve vodě.

Do dvanáctníku bylo v čase 0 podáno 50 ml kapalného prostředku s obsahem 5 jednotek insulínu skotu podle příkladu 1 v čase 0.

Insulin v krevním seru a v lymfě se stanoví radioimunologicky. Lymfa se zředí v poměru 1 : 10, protože ve vzorcích bylo prokázáno velké množství insulinu, pak bylo zjištěno, že je zapotřebí dalšího zředění 1 : 50 pro vzorky lymfy, odebrané v době 15 až 30 minut po podání insulinu.

V hlavní lymfatické cévě, odcházející z dvanáctníku bylo po zavedení kanyly a uspání zvířete možno pozorovat snížení průtoku. Výjimečné bylo přechodné zvýšení průtoku před podáním ODDS-insulin do dvanáctníku, toto zvýšení mohlo být způsobeno použitím anestetickým prostředkem. Průtok lymfy je znázorněn na obr. 2.

Po dvanáctníkové infuzi insulinu bylo možno pozorovat ve vzorku portální krve přechodné zvýšení insulinu v době 7,5 až 15 minut po podání. Jinak nebyly hladiny insulinu v průběhu pokusu v portální krvi změněny, jak je graficky znázorněno na obr. 3B. V systémické žilní krvi nedošlo k žádným změnám za koncentrace insulinu, jak je graficky znázorněno na obr. 3A.

Na obr. 3C je však možno pozorovat význačné a trvalé zvýšení koncentrace insulinu v lymfě, změny se pohybují v rozmezí 1000 až 5000 mikrojednotek/ml lymfy. Toto zvýšení nemůže být způsobeno vyšším průtokem lymfy, jde skutečně o zvýšenou koncentraci.

Je známo, že malé hydrofilní, ve vodě rozpustné chemické látky, jako cukry, mohou být absorbovány "systémem pórů" sliznice tenkého střeva, tímto způsobem se dostávají do kapilárního oběhu a tímto oběhem do portální hepatické žíly. Na druhé straně lipidy a lipofilní látky se vstřebávají dvěma rozdílnými mechanismy. Ty alifatické kyseliny, které mají poměrně krátký řetězec, jako kyseliny o 2 až 6 nebo 8 atomech uhlíku, jako kyselina kapronová nebo karylová jsou absorbovány sliznicí, tuto absorpci enzymaticky i fyzikálně-chemicky "usnadňují" soli žlučových kyselin a pankreatická lipáza. Nakonec jsou tyto kyseliny s kratším řetězcem přiváděny do kapilární krve a touto krví do portálního oběhu.

Ty lipidy a alifatické kyseliny, které mají poměrně delší molekuly, například kyselina olejová a glyceryl dioleáty a trioleáty, stejně jako cholesterol a fosfolipidy se spolu s dalšími sloučeninami, které vytvářejí v membráně chylomikrony absorbují stěnou sliznice tenkého střeva způsobem, který není ještě zcela objasněn. Jakmile se tyto látky dostanou do sliznice, účastní se tvorby chylomikronů a tímto způsobem se dostávají do tuků této sliznice, které jsou omývány lymfou, s touto lymfou se dostávají do ductus thoracicus a tímto způsobem až do celého krevního oběhu.

Zjevné a význačné zvýšení hladiny insulinu, které bylo v průběhu biologických pokusů možno prokázat potvrzuje, že insulin, podaný ve formě prostředku podle vynálezu do dvanáctníku je vázán na chylomikrony nebo prochylomikrony a tímto způsobem se vstřebává do lymfatického systému a nikoliv do portálního žilního systému. Hladina insulinu, kterou bylo možno prokázat v lymfě a která byla až 5000 mikrojednotek/ml je tak významná, že potvrzuje^{ve} vstřebávání insulinu přes chylomikrony a nikoliv portálním systémem.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutický prostředek vyznačující se tím, že sestává z mikroemulze obsahující hydrofilní fázi a hydrofobní fázi, přičemž
 - (A) hydrofilní fáze je dispergována v hydrofobní fázi,
 - (B) hydrofilní fáze obsahuje biologicky účinný materiál, a
 - (C) hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony nebo materiál z něhož se chylomikrony tvoří *in vivo*.
2. Farmaceutický prostředek podle nároku 1, vyznačující se tím, že hydrofilní fáze obsahuje rozpouštědlo mísitelné s vodou.
3. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 nebo 2, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje chylomikrony vysrážené ze séra člověka, vepře nebo skotu vinylovým polymerem.
4. Farmaceutický prostředek podle nároků 1, 2 nebo 3, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje materiál, který tvoří chylomikrony ve střevní sliznici, přičemž tento materiál obsahuje materiál vytvářející matici chylomikronů, fosfolipid a lipofilní povrchově aktivní činidlo.
5. Farmaceutický prostředek podle nároku 4, vyznačující se tím, že materiál vytvářející matici chylomikronů obsahuje cholesterol.
6. Farmaceutický prostředek podle nároku 4 nebo 5, vyznačující se tím, že jako fosfolipid obsahuje lecithin.

8. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 7, vyznačující se tím, že obsahuje ester cholesterolu.

10. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 9, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje rozpouštědlo mísitelné s hydrofobní fází.

12. Farmaceutický prostředek podle nároku 11, vyznačující se tím, že hydrofilní povrchově aktivní činidlo obsahuje polvethylenglykolmonostearát.

14. Farmaceutický prostředek podle nároku 13,
vyznačující se tím, že lipofilní povrchově aktivní činidlo
obsahuje glycerolmonooleát.

15. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahuje alespoň jednu složku ze skupiny zahrnující inhibitor proteázy, stabilizátor biologicky účinného materiálu, emulgační prostředek, stabilizační prostředek a/nebo plastifikační prostředek a/nebo konzervační prostředek.

16. Farmaceutický prostředek podle nároku 1, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 10 % objemových, lipofilní povrchově aktivní činidlo v množství 0,5 % až 95 % objemových, a dále může obsahovat jednu nebo více látek ze skupiny zahrnující cholesterol ester v množství až 5 % objemových, neesterifikovanou alifatickou kyselinu v množství až 50 % objemových a apoprotein v množství až 4 % objemová.

17. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 16, vyznačující se tím, že biologicky účinný materiál je bílkovinné povahy.

18. Farmaceutický prostředek podle nároku 17, vyznačující se tím, že biologicky účinný materiál obsahuje insulin, interferon-gamma nebo interferon-beta.

19. Farmaceutický prostředek podle nároku 18, vyznačující se tím, že biologicky účinný materiál obsahuje insulin.

20. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 19, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje

cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 4 % až 10 % objemových, lipofilní povrchově aktivní činidlo v množství 50 % až 95 % objemových, a dále může obsahovat jednu nebo více látek vybraných ze skupiny zahrnující cholesterolester v množství až 5 % objemových, neesterifikovanou alifatickou kyselinu v množství až 2 % objemová a apoprotein v množství až 4 % objemová.

21. Farmaceutický prostředek podle nároku 17,
vyznačující se tím, že biologicky účinný materiál obsahuje
kalcitonin nebo erythropoietin.

22. Farmaceutický prostředek podle nároku 17,
vyznačující se tím, že biologický účinný materiál obsahuje
kalcitonin lososa.

23. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 19, 21 a 22, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 7 % objemových, lipofilní povrchové aktivní činidlo v množství 0,5 % až 5 % objemových, a dále může obsahovat jednu nebo více látek ze skupiny zahrnující cholesterolester v množství až 5 % objemových, neesterifikovanou alifatickou kyselinu v množství až 44 % objemová a apoprotein v množství až 4 % objemová.

24. Farmaceutický prostředek podle nároku 17, vyznačující se tím, že biologicky účinným materiálem je růstový hormon nebo somatotropin, tkáňový aktivátor plasminogenu nebo faktor VIII.

25. Farmaceutický prostředek podle nároku 24, vyznačující se tím, že biologicky účinným materiálem je somatotropin vepře.

26. Farmaceutický prostředek podle některého nároků 1 až 19, 21, 22, 24 nebo 25, vyznačující se tím, že hydrofobní fáze obsahuje cholesterol v množství 0,5 % až 5 % objemových, lecithin nebo jiný fosfolipid v množství 0,5 % až 40 % objemových, lipofilní povrchové aktivní činidlo v množství 10 % až 70 % objemových, a dále může obsahovat jednu nebo více látek ze skupiny zahrnující cholesterolester v množství až 5 % objemových, neesterifikovanou alifatickou kyselinu v množství až 5 % objemových a apoprotein v množství až 5 % objemových.

27. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 26, vyznačující se tím, že má pevnou formu a obsahuje pevnou nosičovou látku opatřenou povlakem tvořeným mikroemulzí.

28. Farmaceutický prostředek podle nároku 27, vyznačující se tím, že pevnou nosičovou látkou je vápenatá sůl karboxymethylcelulózy, hydroxypropylcelulóza, alginát sodný, želatina, zesítený polyvinylpyrrolidon, erupční rýže nebo polystyren.

29. Farmaceutický prostředek podle nároku 28, vyznačující se tím, že pevný nosičový materiál obsahuje vápenatou sůl karboxymethylcelulózy v množství 20 % až 60 % hmotnostních, kyselinu alginovou v množství 5 % až 25 % hmotnostních, želatinu v množství 2 % až 20 % hmotnostních, hydroxypropylcelulózu v množství 20 % až 60 % hmotnostních, a povrchové aktivní činidlo v množství 0,1 % až 20 %

hmotnostních.

30. Farmaceutický prostředek podle nároku 27,
vyznačující se tím, že pevný nosičový materiál má nutriční
hodnotu.

31. Farmaceutický prostředek podle nároku 30, vyznačující se tím, že pevný nosičový materiál má bílkovinnou povahu.

32. Farmaceutický prostředek podle nároku 31,
vyznačující se tím, že nosičový materiál bílkovinné povahy
obsahuje prášek ze sojových bobů.

33. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 32, vyznačující se tím, že je ve formě s entero-solventním povlakem.

34. Farmaceutický prostředek podle nároku 33, vyznačující se tím, že má pevnou formu a enterosolventní ochranný povlak je tvořen ftalátem hydroxypropylmethylcelulozou.

35. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 1 až 34, vyznačující se tím, že je ve formě kapsle.

36. Farmaceutický prostředek podle nároku 35,
vyznačující se tím, že vnější vrstva kapsle obsahuje tvrdou
želatinu.

37. Farmaceutický prostředek podle nároku 36, vyznačující se tím, že vnější vrstva z tvrdé želatiny je opatřena enterosolventním povlakem ftalátu hydroxypropyl-

methylcelulozy.

38. Způsob přípravy želatinové kapsle opatřené enterosolventním povlakem obsahující farmaceutickou formulaci podle některého z nároků 1 až 32, vyznačující se tím, že se nejprve na kapsli uloží povlak z materiálu schopného chránit želatinovou vrstvu kapsle od nepříznivých účinků methylenchloridu, načež se takto chráněná kapsle opatří povlakem ftalátu hydroxypropylmethylcelulozy za použití roztoku tohoto ftalátu hydroxypropylmethylcelulozy v methylenchloridu.

39. Způsob podle nároku 38, vyznačující se tím, že první ochranný povlak obsahuje směs polyvinylpyrrolidonu a hydroxypropylmethylcelulozy.

40. Způsob přípravy perorálně nebo rektálně přijatelného prostředku podle některého z nároků 1 až 37, vyznačující se tím, že tento postup zahrnuje :

(a) rychlé smíchání biologicky účinného materiálu ve vhodném hydrofilním rozpouštědle s hydrofobní fází, která obsahuje lipofilní povrchově aktivní činidlo, a případně jeden nebo více následujících stupňů :

(b) přidání hydrofilní povrchově aktivní látky a další rychlé promísení,

(c) vedení této směsi mikrofluidizačním zařízením,

(d) povlečení pevného nosičového materiálu touto formulací, a

(e) granulování povlečeného pevného nosičového materiálu.

41. Způsob podle nároku 40, vyznačující se tím, že zahrnuje stupeň (b), ve kterém se získaná směs nechá projít

celkem třikrát tímto mikrofluidizačním zařízením.

42. Způsob podle nároku 40 nebo 41, vyznačující se tím, že zahrnuje stupeň (d), ve kterém se pevný nosičový materiál opatří povlakem rozprašováním.

43. Způsob podle nároku 42, vyznačující se tím, že nanášení povlaku rozprašováním se provádí ve fluidní vrstvě.

44. Způsob podle nároku 43, vyznačující se tím, že se fluidizační plyn zahřívá v případě, že teplota fluidní vrstvy klesne pod 24 °C a ochlazuje se v případě, že teplota fluidní vrstvy vystoupí nad 34 °C.

45. Způsob podle nároku 43 nebo 44, vyznačující se tím, že povlékání rozprašováním provádí při teplotě 29 ± 5 °C.

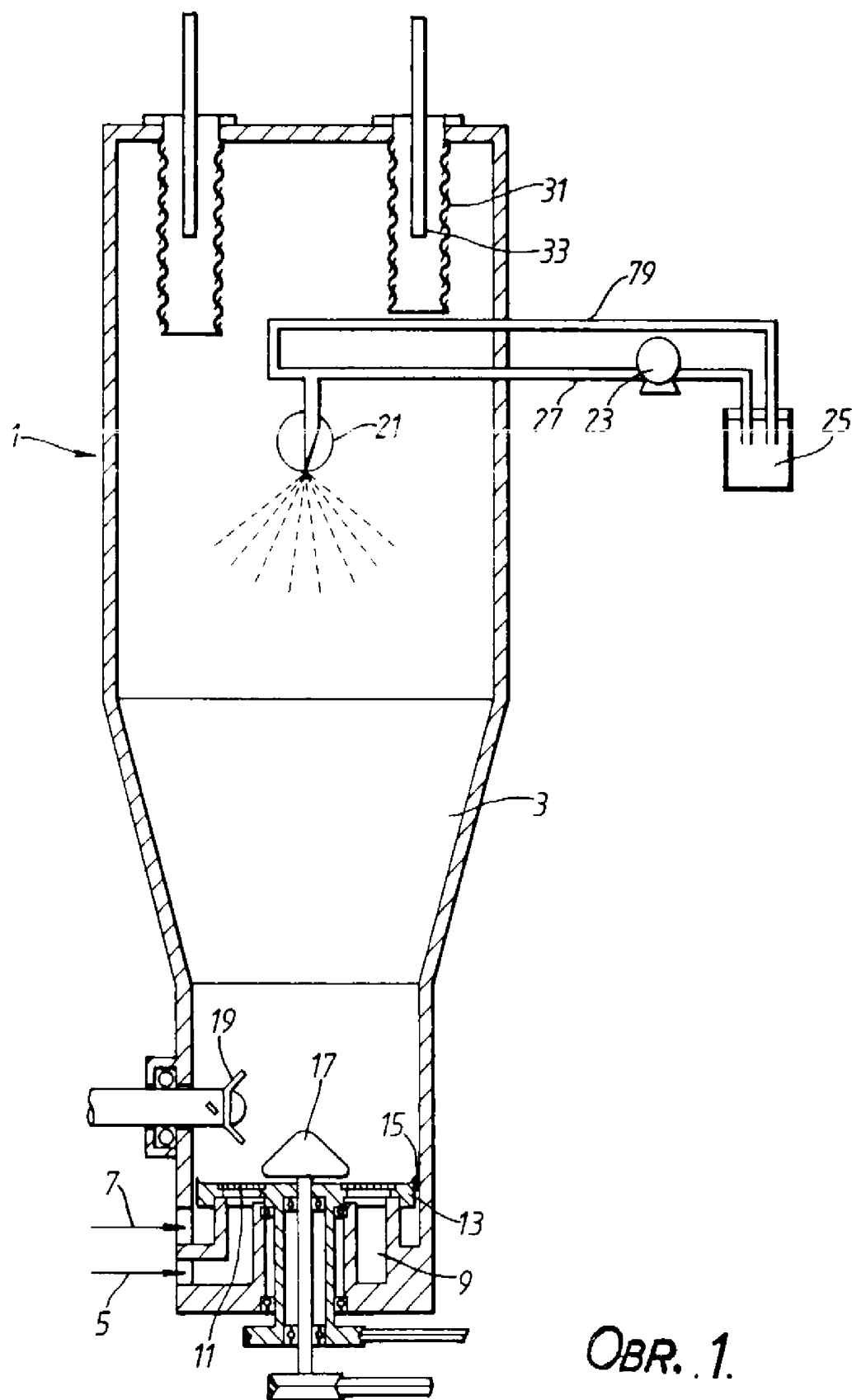
46. Způsob podle některého z nároků 42 až 45, vyznačující se tím, že se povlékání rozprašováním provádí přerušovaně.

47. Způsob podle některého z nároků 40 až 46, vyznačující se tím, že zahrnuje stupeň (d), ve kterém se povlečené částice nosičového materiálu granulují.

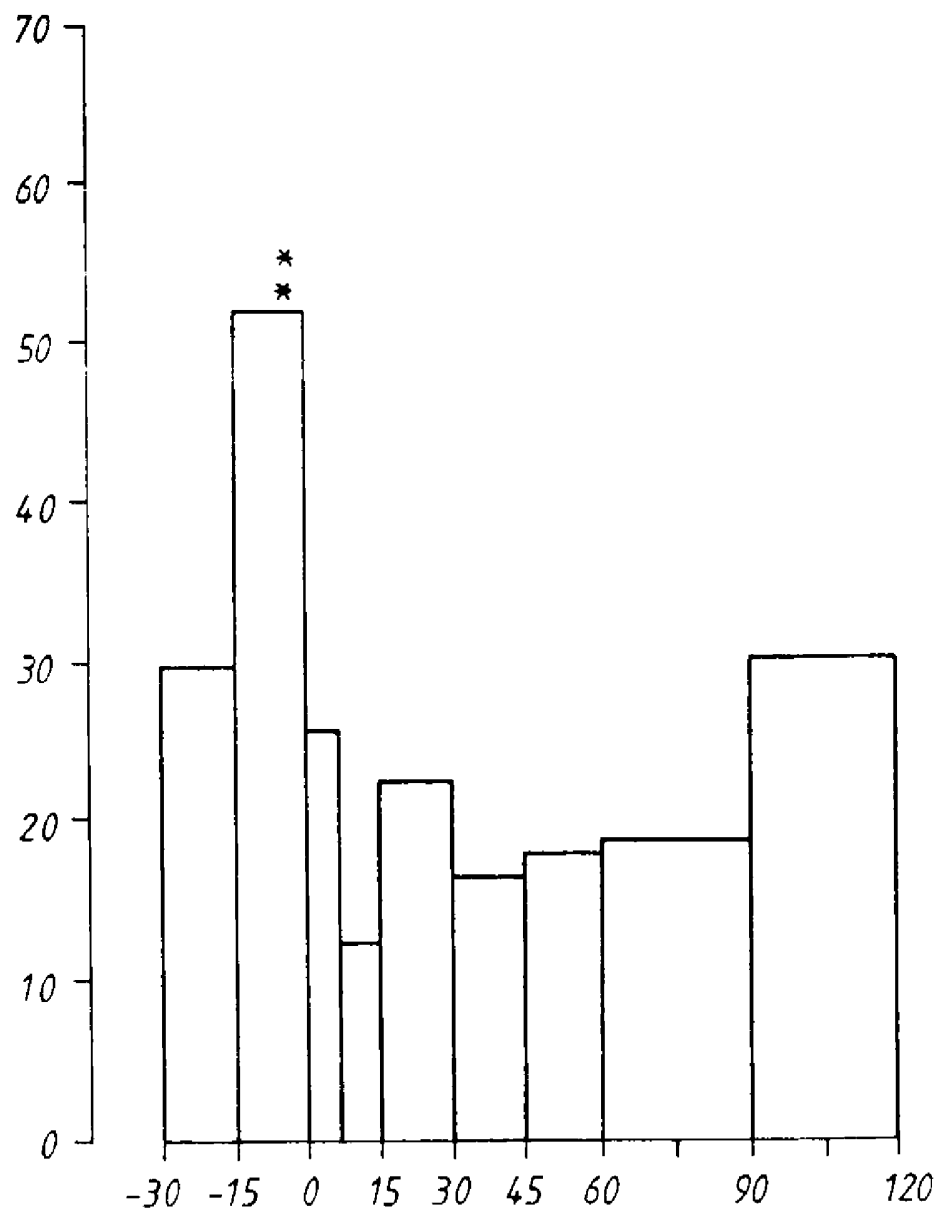
48. Způsob podle některého z nároků 40 až 47, vyznačující se tím, že zahrnuje stupeň (d), ve kterém se povlečené částice nosičového materiálu opatří enterosolventním povlakem.

Zastupuje :

Dr. Miloš Všečka



OBR. 1.



OBR. 2.

