SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**

ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(21) Číslo prihlášky: **1322-93**

(22) Dátum podania: **26.03.1993**

(31) Číslo prioritnej prihlášky: **9200951-3**

(32) Dátum priority: **27.03.1992**

(33) Krajina priority: **SE**

(40) Dátum zverejnenia: **06.07.1994**

(45) Dátum zverejnenia udelenia vo Vestníku: **13.03.2000**

(86) Číslo PCT: **PCT/SE93/00258, 26.03.1993**

(11) Číslo dokumentu:

280 494

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl [6]:

A 61K 9/127
A 61K 47/44
B 01J 13/02

(73) Majiteľ patentu: KABI PHARMACIA AB, Uppsala, SE;

(72) Pôvodca vynálezu: Nyqvist Håkan, Tullinge, SE;
Einarsson Monica, Uppsala, SE;
Mattsson Christer, Sundbyberg, SE;

(74) Zástupca: Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;

(54) Názov vynálezu: **Farmaceutický prostriedok obsahujúci systém lipidov a jeho použitie**

(57) Anotácia:
Farmaceutický prostriedok obsahuje systém lipidov z najmenej dvoch lipidných zložiek. Najmenej jedna z lipidných zložiek je amfifatická a polárna a jedna je nepolárna. Farmaceuticky účinnou zlúčeninou je heparín alebo jeho fragment. V prostriedok je taktiež obsiahnuté rozpúšťadlo obsahujúce vodu v takom množstve, že sú prítomné jednotlivé oddelené lipidné častice a tieto prostriedky môžu byť upravené na rôzne formy podávania, ako je rektálne, orálne, bukálne alebo transdermálne podanie a podobne.

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú systém lipidov z najmenej dvoch lipidných zložiek, kde najmenej jedna z lipidných zložiek je amfifatická a polárna a jedna je nepolárna a kde farmaceuticky účinnou zlúčeninou je heparín, jeho fragment alebo jeho derivát. Prostriedky ďalej obsahujú vodné rozpúšťadlo v takom množstve, že sú prítomné oddelené lipidné častice a tieto prostriedky môžu byť upravené na rôzne formy podania, ako rektálne, orálne, bukálne, sublinguálne, transdermálne, nasálne alebo subkutánne.

Doterajší stav techniky

Boli opísané farmaceutické prostriedky, v ktorých je heparín umiestnený v lipozómoch, napríklad v US patente č. 4 887 561 a v článku T.D. Kim et al., Thrombosis Research, 1986, Zv. 43. str. 603 až 612. Ale tieto publikácie nenavrhujú, že vhodná bioabsorpcia cez membrány by mohla nahradiť injekcie. Navyše v porovnaní s predloženou prihláškou sa lipozómy pripravujú komplikovanejšie.

Nemecká prihláška vynálezu DE 3331009 nárokuje použitie nikotín obsahujúcich tenzidov na zlepšenie enterálnej absorpcie heparínu. Ani tento dokument však neopisuje zistenie takej bioabsorpcie, ktorá by mohla nahradiť bežnú parenterálnu terapiu.

Podstata vynálezu

Výhodou predloženého vynálezu je, že poskytuje nosičový systém pre heparíny a heparínové fragmenty, ktorým môže byť zlepšená bioabsorpcia cez biologické membrány. To umožňuje vývoj rôznych prípravkov, ako napríklad orálnych, bukálnych, rektálnych a pod., ktoré potenciálne majú rovnako vysokú bioabsorpciu ako subkutánne injektované prípravky zo známeho stavu techniky.

Tento vynález je založený na systéme lipidov, ktorý je opísaný vo Švédskej patentovej prihláške SE 9003100-6, a ktorý pozostáva z najmenej dvoch lipidných zložiek, vybraných zo súboru s rôznou polaritou, kde najmenej jedna zo zlúčenín je amfifatická a polárna a jedna je nepolárna.

Amfifatická a polárna zlúčenina je zlúčenina tvoriaca dvojitú vrstvu a oddelené lipidné častice sa tvoria spontánne zo systému lipidov, keď vzájomne na seba pôsobia s nadbytočným množstvom vody alebo rozpúšťadiel, ktoré obsahujú vodu.

Definovanou lipidnou zložkou je lipid, ktorého chemické zloženie je známe a regulované. Tieto skutočnosti budú vysvetlené podrobne ďalej a v príkladoch.

Vlastnosť "tvoriaci dvojitú vrstvu" je dobre známy fyzikálny parameter a môže sa ľahko stanoviť vhodnými fyzálno-chemickými metódami (napríklad spôsobom určenia rovnovážneho stavu povrchu). Vzniknuté oddelené lipidné častice sa môžu stanoviť fyzikálnymi a/alebo chemickými spôsobmi, ako mikroskopicky s použitím polarizovaného svetla, zobrazovacou analýzou alebo difrakčnými metódami.

Zmeny v zložení lipidu umožňuje regulačný mechanizmus, pomocou ktorého sa tvoria lipidné častice a tým sa ovplyvňuje stupeň tvorby lipidných častíc. Tento mechanizmus bude slúžiť ako regulačný faktor buď na bezprostredné alebo trvalé uvoľňovanie zachytených alebo pripojených biologicky aktívnych materiálov.

Používajú sa takto definované výrazy:

Lipidy - všeobecný výraz na prírodné alebo syntetické zlúčeniny, ktoré pozostávajú z nosičov obsahujúcich acyl, ako je glycerol, sfingosin, cholesterol a iné látky alebo ich deriváty, ku ktorým je alebo môže byť viazaná jedna alebo väčší počet mastných kyselín. Pod tento výraz môžu byť taktiež zahrnuté podobné molekuly, ktoré obsahujú dôležitú uhľovodíkovú časť.

Lipidy používané pre lipidné častice tvoriace sytémy môžu byť zoskupené do rôznych súborov lipidov v závislosti od ich polarity a to:

Súbory nepolárnych lipidov - majú nepolárne hlavné skupiny alebo hydrofilnú časť, ktorá je tak malá alebo tak stéricky bránená, že nemôže dôjsť ku vzájomnému pôsobeniu s vodou. Príklady nepolárnych zložiek sú uhľovodíky alebo nenapučiavajúce amfifilné látky, ako sú monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly, cholesterol, alifatické alkoholy alebo estery cholesterolu.

Súbory polárnych lipidov - ako sú fosfolipidy alebo glykolipidy, ktoré majú povrchovú rozpustnosť v dôsledku výrazne polárnej zložky. V závislosti od ich špecifického vzájomného pôsobenia s vodou sa ďalej delia na kategórie napučiavajúcich a rozpustných amfifilných látok.

Súbory amfifalitkých alebo amfifilných lipidov, ako sú fosfolipidy a glykolipidy, ktoré majú povrchovú aktivitu.

Súbory dvojitú vrstvu tvoriacich lipidov - amfifatické lipidy, ako je fosfatidylcholín (PC), sfingomyelin, fosfatidylinozitol (PI) alebo fosfatidyletanolamín (PE) s molekulárnou geometriou, ktorá výhodne tvorí štruktúry dvojitých vrstiev v prítomnosti vody.

Lipidy používané v nosných systémoch podľa tohto vynálezu pozostávajú zo zmesi lipidných súborov, charakterizovaných ich rôznymi polaritami. Polárne lipidy, ako sú fosfolipidy alebo glykolipidy, a nepolárne lipidy, ako sú monoglyceridy, diglyceridy a triglyceridy, sú hlavnými zložkami v systéme, hoci steroly, ako je cholesterol, mastné kyseliny, alifatické alkoholy a ich estery, rovnako ako iné skupiny lipidov sa môžu taktiež používať. Tieto dobre definované zmesi lipidov z rozličných súborov vymedzených nemôžu byť zameniteľné s priemyselne dostupnými produktmi, ako je sójový olej alebo sójový lecitín a vaječný lecitín. Na získanie dobre definovaných skupín lipidov sa priemyselne dostupný olej frakcionuje a potom sa rôzne súbory lipidov miešajú, ako bude podrobnejšie vysvetlené v príkladoch uvedených ďalej. Inou cestou na získanie dobre definovaných súborov lipidov je použitie lipidov vyrobených synteticky.

Okrem toho sa deriváty lipidov môžu taktiež používať v kombinácii s uvedenými lipidami. Jedným z takýchto príkladov je polyetylénglykol viazaný s fosfatidyletanolamínom, pri ktorom sa prejavuje predĺžený čas cirkulácie lipozómov po injekcii do krvného riečišťa. Iným príkladom takéhoto derivátu je palmitoylkarnitín, ktorý pôsobí ako látka zvyšujúca absorpciu biologicky aktívnych látok v čreve.

Pri vhodnom spôsobe vyvolania tvorby nosičového systému lipidov sa biologicky aktívna látka primieša ku zvolenému lipidu a potom sa primieša lipid rozdielnej polarity. V tomto striedaní polárneho a nepolárneho lipidu sa môže pokračovať počas toľkých cyklov, koľko je potrebných v špecifickom prípade, a zahrnuje rad lipidov s rozdielnymi polaritami.

Výhodný spôsob zavedenia biologicky aktívnej látky do nosičového systému lipidov spočíva v pridávaní biologicky účinnej látky k amfifilným lipidom v poradí, ktoré vytvára homogénny prostriedok, v ktorom množstvo amfifilných lipidov vo všeobecnosti je v celkovom rozmedzí od 1 do 90 % hmotnostných. Takýto amfifilný lipid má byť

schopný samovoľne vytvárať dvojitú vrstvu. Príkladmi takýchto látok sú súbory amfifilných a polárnych lipidov, ako je fosfatidylcholín, fosfatidylglycerol, fosfatidylinozitol a fosfatidylserín alebo ich zmesi.

Návrh nosičového systému lipidov zahrnuje nielen správny výber a/alebo kombináciu súboru lipidov, ktoré sú prispôsobené na solubilizáciu každej biologicky aktívnej látky, ale taktiež správny výber rozloženia mastných kyselín, to znamená acylových skupín pripojených k použitým súborom lipidov. Zmena acylových skupín poskytuje rozdielne fyzikálnochemické vlastnosti, ako bude zrejmé z príkladov uvedených ďalej.

Miera, v akej sa lipidné častice tvoria zo systému v danom vodnom prostredí sa môže ovplyvňovať a regulovať zmenou geometrického tvaru hlavného súboru lipidu tvoriaceho dvojitú vrstvu, to znamená účinkom oblasti hlavných skupín vo vzťahu k stérickej konformácii uhľovodíkových reťazcov.

Druhým spôsobom na ovplyvňovanie a reguláciu tvorby lipidných častíc je menenie štruktúry, a tým prispôsobivosti, uhľovodíkového reťazca v nepolárnej časti systému lipidov. To bude ovplyvňovať stupeň vzájomného pôsobenia endogénnych amfifatických lipidov a exogénneho vodného prostredia.

Detailný opis vynálezu

Podľa tohto vynálezu sa opísaný systém lipidov používa vo farmaceutických prostriedkoch, ktoré obsahujú heparín, jeho fragment alebo jeho derivát, a vodu obsahujúce rozpúšťadlo.

Výraz "heparín" označuje ľubovoľnú frakciu alebo skupinu heparínov z prírodných, biologicky syntetizovaných, syntetických alebo génovým inžinierstvom získaných zdrojov, rovnako ako ich ľubovoľné deriváty, to znamená estery heparínu a "ich fragmenty", ktoré označujú ľubovoľné nízkomolekulové fragmenty heparínu alebo ich deriváty vrátane chemicky upravených syntetických oligosacharidov podobných heparínu. Pri rade neparenterálnych foriem podania sú skúsenosti so značnými ťažkosťami pri prekonávaní malej biologickej absorpcie heparínu. Predmet tohto vynálezu rieši tento problém tým, že poskytuje pružný prostriedok založený na už uvedenom systéme lipidov.

Iný znak tohto vynálezu sa týka prostriedku predovšetkým vhodného na zvyčajné formy dlhodobého samopodávania heparínov, ako alternatívy k podávaniu parenterálnemu.

Takýto prostriedok sa môže použiť na výrobu prostriedkov upravených na orálne, rektálne, bukálne, sublinguálne, nasálne, subkutánne alebo iné transmembránové alebo transdermálne podávanie, pridávaním vhodných vehikúl, rozpúšťadiel alebo nosičov na každú vhodnú cestu podania.

Amfifatická a polárna zlúčenina je výhodne fosfatidylcholín. Nepolárny lipid je výhodne zvolený z monoglyceridov, diglyceridov a triglyceridov.

Množstvo vody v prostriedku by malo byť natoľko dostatočné, aby sa vytvorili oddelené častice lipidov.

Táto podmienka sa testuje pre každý systém lipidov, pretože skutočné obmedzenie systému na vytvorenie lipidných častíc závisí od povahy a zloženia lipidných zložiek a od povahy biologicky aktívnej zložky určenej na podávanie systémom.

Najdôležitejšie úvahy, pokiaľ sa vyberajú zložky systému lipidov, sa týkajú zloženia lipidov a polarity biologicky aktívnej liečivej látky, určenej na zapravenie do systému.

Absorpcia sa môže regulovať zmenou dĺžky reťazca glyceridov medzi 6 a 18 atómami uhlíka, výhodne medzi 6 a 12 atómami uhlíka. Voľba polarity a výber odlišne nabitých skupín zložky môže taktiež ovplyvniť prostriedok obsahujúci lipidné častice.

Lipidové častice môžu byť zmiešaným súborom obsahujúcim rozdielne jednoduché, dvojité a viacnásobné vrstvené štruktúry, ako sú micely, lipozómy a vyššie viacnásobné vrstvené štruktúry.

Existuje celý rad spôsobov, dobre známych v odbore, na reguláciu súboru tak z hľadiska rozmedzia veľkosti, ako i štruktúry, ako je pôsobenie ultrazvuku, regulované miešanie a spracovanie v zariadení prispôsobenom na ovplyvnenie zmeny rozmedzia veľkosti. Potreba takéhoto zariadenia sa zvažuje oddelene na každú formu podania a každú terapeuticky účinnú zlúčeninu, ktorá má byť zavedená s prostriedkom.

Prostriedky zo súboru lipidných častíc sú taktiež ovplyvňované voľbou lipidnej látky s ohľadom na jej polaritu, dĺžku uhlíkového reťazca alebo reťazcov a iné okolnosti, ktoré boli rozobrané.

Vo výhodnom prostriedku podľa tohto vynálezu je zlúčeninou heparín alebo jeho fragment a systém lipidov obsahuje fosfatidylcholín ako amfifilnú zlúčeninu a monoglycerid ako nepolárnu zlúčeninu.

Množstvo amfifilnej zlúčeniny v prostriedku môže byť v rozmedzí od 1 do 90 % hmotnostných, výhodne od 1 do 50 % hmotnostných a predovšetkým výhodne od 5 do 50 % hmotnostných, vztiahnuté na systém lipidov.

Výhodným heparínovým fragmentom je Fragmin^R, čo je nízkomolekulárny heparínový fragment vyrábaný firmou Kabi Pharmacia z heparínu ošípaných riadeným depolymerizačným postupom s použitím kyseliny dusičnej, ako je opísané v Európskom patente č. 14 184. Fragmin^R môže byť vo forme roztoku alebo suspenzie, pokiaľ sa pridá alebo zmieša s inými zložkami prostriedku. Môže sa taktiež zmiešať so základnou látkou v podstate obsahujúcou vodu a neobsahujúcou lipidy predtým, ako sa pridajú iné zložky prostriedku.

Fragmin^R je veľmi ľahko rozpustný vo vode a takýto vodný roztok sa pokladá za stabilný.

Vlastnosti Fragminu^R umožňujú dosiahnuť celý rad prostriedkov, založených na systéme lipidov, za pridaní vhodných vehikúl.

Prostriedky môžu byť prispôsobené na rektálne použitie, vo všeobecnosti vo forme peny, nálevov, kapsúl a čípkov alebo rozličných prostriedkov, bežne vyrábaných na orálne, bukálne, sublinguálne, nasálne, transdermálne a subkutánne podanie alebo na podanie sliznicami. Prostriedky podľa tohto vynálezu, obsahujúce Fragmin^R a definované lipidy, sú taktiež vhodné na výrobu depotných prostriedkov na dosiahnutie trvalého uvoľňovania, napríklad subkutánnym podaním alebo na aplikácie na poréznu polymérnu základnú látku s mukoadhéznymi vlastnosťami, napríklad na bukálne podanie.

Využiteľnosť

Prostriedky sú vhodné na ošetrovanie a/alebo prevenciu veľmi rôznorodých patologických procesov, ako sú tromboembolické choroby, predinfarktová angína, koronárne srdcové choroby, zápalové choroby, tromboflebitída, autoimunitné choroby a artérioskleróza alebo na ošetrovanie chorôb súvisiacich s metastázou alebo chorobami príbuznými angiogenéze.

Akákoľvek úprava prostriedkov na uvedené cesty podania na ľubovoľné uvedené ošetrenie bude zrejmá odborníkovi v odbore.

Celková dávka Fragminu^R na uvedené formy podania tak môže byť veľmi vysoká a je obmedzená iba na biolo-

gickú dostupnosť a tým, či je terapeuticky alebo klinicky vhodná pri aplikácii a či bude dobre znášaná.

Príklady klinických dávok sú 120 medzinárodných jednotiek (IU) na kilogram telesnej hmotnosti dvakrát denne na hlbokú žilovú trombózu a na profylaxiu trombózy (pre nízko rizikových pacientov) 2500 medzinárodných jednotiek za deň alebo 5000 medzinárodných jednotiek za deň (pre vysoko rizikových pacientov).

Napríklad pomerné množstvo Fragminu^R k lipidom môže byť v rozmedzí od 1 do 200 % hmotnostných, výhodne od 2 do 80 % hmotnostných.

Ale vyššie množstvo tak Fragminu^R, ako i lipidov je možné použiť v súvislosti s týmto vynálezom, pokiaľ je klinicky vhodné.

Ak množstvo lipidov bude v prostriedkoch nízke, zvýšený účinok absorpcie bude znížený, čo sa môže kompenzovať zvýšením množstva Fragminu^R s cieľom dosiahnuť rovnaké hladiny séra po podaní.

Toto široké rozmedzie koncentrácie, umožňujúce aby Fragmin^R ku lipidu bol v relatívnom množstve až do 200 % hmotnostných, poukazuje na pružnosť zložiek určených na úpravu na prostriedok vhodný na formy dávkovania, ktoré sú určené na podávanie rôznym typom pacientov.

Rozpustnosť a stabilita Fragminu^R uľahčuje prispôsobenie prostriedku na vhodnú formu podania a okrem toho je celkom zrejmé, že môže mať stabilizačný vplyv na súbor lipidných častíc v prostriedku, pravdepodobne v dôsledku vysokej hustoty jeho záporného náboja.

Ďalej uvedené príklady, ktoré nemajú byť pokladané za obmedzenie tohto vynálezu, uvádzajú Fragmin^R obsiahnutý v prostriedkoch s lipidmi definovanými v príkladoch, s podielom 25 % fosfatidylcholínu ako amfifilnou zlúčeninou a 75 % monoglyceridu ako nepolárnou zlúčeninou.

Prostriedky sa podávajú rektálne alebo intraduodenálne in vivo s rôznym množstvom prídavného rozpúšťadla na báze vody. Pre intraduodenálne použiteľné prostriedky sa obsah vody môže meniť od 1 do 4 dielov hmotnostných, vztiahnuté na lipidnú zložku v prostriedku.

Relatívne množstvo Fragminu^R k lipidom určeným na testovanie je od 2 do 200 % hmotnostných.

Príklady 1 až 5 uvedené ďalej ilustrujú zmenu lipidných zložiek systému lipidov, v neprítomnosti biologicky aktívnych zlúčenín, zvolených z lipidov a ich kombinácií, bez obmedzenia rozsahu ochrany.

Príklady 6 a 7 ukazujú spôsob výroby prostriedkov, ktoré obsahujú systém lipidov pozostávajúci z fosfatidylcholínu, esterov glycerolu a Fragminu^R. Tieto prostriedky na začiatku neobsahujú rozpúšťadlo na báze vody v množstve umožňujúcom, aby tvorba lipidných častíc prebiehala priamo a samovoľne.

Príklad 8 ukazuje zvierací model použitý pri pokusoch v nasledujúcich príkladoch a biologickú dostupnosť Fragminu^R po intraduodenálnom alebo rektálnom podaní v neprítomnosti systému lipidov.

Príklad 9 ukazuje, že intraduodenálna absorpcia Fragminu^R sa významne zvýši, pokiaľ sa zahrnie systém lipidov.

Príklad 10 ukazuje, že sa intraduodenálna absorpcia zvyšuje, ak sa pred podaním pridá vonkajšia voda.

Príklad 11 ukazuje, že intraduodenálna absorpcia sa taktiež podobne zvyšuje, pokiaľ voda v príklade 10 sa vymení za fyziologický roztok chloridu sodného v rovnakom množstve.

V príklade 12 je ukázané, že rektálna absorpcia Fragminu^R je významne vyššia, pokiaľ sa zapraví do systému lipidov, v porovnaní s Fragminom^R rozpusteným vo fyziologickom roztoku chloridu sodného v neprítomnosti systému lipidov.

Príklad 13 ukazuje, že pridanie vonkajšej vody alebo fyziologického roztoku chloridu sodného k systému lipidov má kladný účinok na rektálnu absorpciu.

V príkladoch 14 a 15 je ukázané, že Fragmin^R nemusí byť bezpodmienečne zahrnutý do systému lipidov pred rozpúšťaním vo vode alebo vo fyziologickom roztoku chloridu sodného, aby sa absorboval v dvanástniku a v konečníku.

Príklad 16 ilustruje, že testované priemyselne dostupné surové lipidy majú nižšiu rektálnu absorpciu ako definované lipidy.

V príklade 17 je porovnanie absorpcie pri odlišných pomeroch Fragminu^R k lipidu a ukazuje sa, že rektálna absorpcia je vysoká počas širokého rozmedzia koncentrácie lipidu a Fragminu^R.

Príklad 18 porovnáva absorpciu heparínu a Fragminu^R v prostriedkoch, ktoré obsahujú systém lipidov.

Príklad 19 ukazuje, že po vyrobení prostriedku sa roztok môže skladovať počas premenného časového obdobia pred podaním, bez významného vplyvu na absorpčné vlastnosti.

Príklady 20 a 21 ukazujú, že účinok Fragminu^R sa zachová a jeho absorpcia je stále vysoká počas predĺženého časového obdobia skladovania prostriedku.

Výsledky ukazujú, že systém lipidov zvyšuje intraduodenálnu absorpciu a že najvyššia absorpcia intraduodenálne aplikovaného Fragminu^R sa dosiahne s najvyšším testovaným obsahom vody v prostriedku. Testované koncentrácie zložiek ukazujú priaznivé výsledky. Ale je ešte ďalej možné optimalizovať výsledky.

Príčinami zvýšenej absorpcie môže byť, že sa dosiahne vyšší styk povrchovej plochy medzi prostriedkom a črevnými membránami, ale pravdepodobne tiež to, že súbor lipidných častíc má výhodné štruktúrne zloženie v stupni príslušného riedenia.

Lipidné častice môžu taktiež chrániť liečivú látku pred enzymatickým odbúravaním v črevách, ako v prípade, že v roztoku sú prítomné lipidné častice nesúce liečivú látku, tak ako sú prítomné v roztoku. Veľké množstvo prítomných lipidov môže brániť enzýmom degradujúcim Fragmin^R a v takomto prípade Fragmin^R môže byť dobre chránený mimo lipidové častice. Ale pokiaľ je množstvo lipidov malé, môže byť výhodné obklopiť Fragmin^R lipidnými časticami.

S inhibítormi enzýmov sa môže uvažovať ako s prísadou ku prostriedkom podľa tohto vynálezu.

Je taktiež potrebné poznamenať, že absorpcia je vysoká bez ohľadu na to, či Fragmin^R je na začiatku prítomný voľne v roztoku alebo zapravený do lipidových častíc. Vynikajúce výsledky absorpcie sa taktiež ukazujú po rektálnom podaní prostriedkov obsahujúcich Fragmin^R s systémom lipidov pri širokom rozmedzí obsiahnutej vody alebo fyziologického roztoku chloridu sodného. Tieto výsledky sú porovnateľné so subkutánnymi injekciami, ktoré sú v súčasnom období najbežnejšou cestou podania.

Taktiež sa ukázalo, že systém lipidov je výhodný v porovnaní s komerčne dostupnými lipidmi s ohľadom na reguláciu a stabilizovanie prostriedkov, rovnako ako reprodukovateľnosť absorpcie.

Taktiež sa zistilo, že veľkosť vzniknutých častíc sa môže do značnej miery meniť bez ovplyvnenia priaznivých absorpčných vlastností Fragminu^R. Prostriedky sa javia byť taktiež použiteľné po uplynutí krátkeho alebo dlhého časového obdobia po ich výrobe.

Prostriedky podľa tohto vynálezu rovnako umožňujú, aby sa zvýšila absorpcia heparínu, pokiaľ sa podávajú s li-

pidným systémom. Systém lipidov používaný podľa tohto vynálezu je taktiež vhodný, pretože jeho dobre definované zložky umožňujú biologickú absorpciu a taktiež uvoľňovanie a solubilizácia liečivej látky sa môže regulovať oveľa presnejšie.

To znamená, že voľba vhodných lipidných zložiek zo súboru lipidov umožní lepšie regulovanie absorpcie, ktoré sa má dosiahnuť. Je tiež potrebné poznamenať, že vysoká absorpcia sa môže dosiahnuť, pokiaľ Fragmin^{R} nie je zahrnutý do systému lipidov počas výroby, ale pridá sa ako roztok ku lipidnej zložke počas pretrepávania alebo pôsobenia ultrazvuku.

Napokon treba vziať do úvahy, že prostriedky založené na systéme lipidov a heparínoch alebo heparínových fragmentoch sú prekvapivo výhodné s ohľadom na zvýšenú absorpciu a poskytujú výhodu, ktorá umožňuje regulovanú rýchlosť absorpcie.

Odborníkovi v odbore budú zrejmé rôzne modifikácie a ekvivalentné riešenia. Môžu sa používať zlúčeniny, prostriedky a spôsoby podľa tohto vynálezu bez toho, aby sa vybočilo z celkového rázu a rámca tohto vynálezu, a preto je potrebné vziať do úvahy, že vynález nie je obmedzený na špecifické príklady a v nich zahrnuté uskutočnenia.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

1,25 g fosfolipidov zo sójových bôbov (I) sa pridá k zmesi glyceridov (II) a opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 12 hodín. K zmesi sa potom pridá 2,50 g triglyceridov (III) a celá zmes sa mieša pri teplote 60 °C počas 1 hodiny.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II	III	Zloženie mastných kyselín z triglyceridov (% hmotnostné)	
fosfatidylcholín	0,50				
fosfatidyletanolamín	0,40				
fosfatidylinozitol	0,23				
nepolárne lipidy	0,12				
monoacylglycerol		0,63			
diacylglycerol		0,63			
triacylglycerol			2,50	8:0 kaprylát	58,5
				10:0 kaprát	40,5
				12:0 laurát	0,6
				16:0 palmitát	
				18:0 stearát	
				18:1 oleát	
				18:2 linoleát	
				18:3 linolenát	
				minoritné zložky	0,4
celkom	1,25	1,25	2,50	100	

Príklad 2

1,25 g fosfolipidov zo sójových bôbov (I) sa pridá k 1,25 g zmesi glyceridov (II) a opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 12 hodín. K zmesi sa potom pridá 2,50 g triglyceridov (III) a celá zmes sa mieša pri teplote 60 °C počas 1 hodiny.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II	III	Zloženie mastných kyselín z triglyceridov (% hmotnostné)	
fosfatidylcholín	0,40				
fosfatidyletanolamín	0,35				
fosfatidylinozitol	0,18				
kyselina fosforečná	0,07				
nepolárne lipidy	0,25				
monoacylglycerol		0,63			
diacylglycerol		0,63			
triacylglycerol			2,50	8:0 kaprylát	58,5
				10:0 kaprát	40,5
				12:0 laurát	0,6
				16:0 palmitát	
				18:0 stearát	
				18:1 oleát	
				18:2 linoleát	
				18:3 linolenát	
				minoritné zložky	0,4
celkom	1,25	1,25	2,50	100	

Príklad 3

1,25 g fosfolipidov zo sójových bôbov (I) sa pridá k 1,25 g zmesi glyceridov (II) a opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 12 hodín.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II
fosfatidylcholín	0,40	
fosfatidyletanolamín	0,35	
fosfatidylinozitol	0,18	
neutrálne lipidy	0,32	
monoacylglycerol		0,63
diacylglycerol		0,63
triacylglycerol		
celkom	1,25	1,25

Príklad 4

1,25 g fosfolipidov zo sójových bôbov (I) sa pridá k 1,25 g zmesi glyceridov (II) a 0,16 g etanolu. Celá zmes sa opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 12 hodín. K zmesi sa potom pridá 0,16 g triglyceridov (III) a celá zmes sa mieša pri zvýšenej teplote 60 °C ďalšiu hodinu.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II	III
fosfatidylcholín	0,40		
fosfatidyletanolamín	0,35		
fosfatidylinozitol	0,18		
neutrálne lipidy	0,32		
monoacylglycerol		0,63	
diacylglycerol		0,63	
triacylglycerol			0,16
celkom	1,25	1,25	0,16

Príklad 5

2,50 g fosfatidylcholínu zo sójových bôbov (I) a 7,50 g monoglyceridu (II) sa sa opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 6 hodín. K zmesi sa potom pridá 1,25 g vody a v miešaní sa pokračuje pri zvýšenej teplote ďalšiu hodinu.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II
fosfatidylcholín	2,50	
monoacylglycerol		7,50
celkom	2,50	7,50

Príklad 6

2,50 g fosfatidylcholínu zo sójových bôbov (I) a 7,50 g monoglyceridu (II) sa opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 6 hodín. K zmesi sa potom pridá 1,25 g roztoku Fragminu^{R} (120 mg/g vody) a pokračuje sa v miešaní pri zvýšenej teplote ďalšiu hodinu.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II
fosfatidylcholín	2,50	
monoacylglycerol		7,50
celkom	2,50	7,50

Príklad 7

2,50 g fosfatidylcholínu zo sójových bôbov (I) a 7,50 g monoglyceridu (II) sa opatrne mieša pri teplote 60 °C počas 6 hodín. K zmesi sa potom pridá 1,25 g roztoku Fragminu^{R} (120 mg/g vody) a pokračuje sa v miešaní pri zvýšenej teplote ďalšiu hodinu.

Zložka zo súboru lipidov (g)	I	II	Zloženie mastných kyselín z monoacylglycerolu (% hmotnostné)	
fosfatidylcholín	2,50			
monoacylglycerol		7,50		
			8:0 kaprylát	78,4
			10:0 kaprát	21,2
			12:0 laurát	0,2
			minoritné zložky	0,2
celkom	2,50	2,50	100	

Rozloženie veľkosti lipidových častíc vzniknutých vo vode pri teplote 37 °C sa stanovuje v príklade 15 pri použití zariadenia Malvern. Prostriedok sa opatrne trepe s vodou počas 17 hodín a potom sa odstredí na oddelenie lipidovej fázy od fázy vodnej. Dosiahnu sa výsledky, ktoré sú zhrnuté ďalej.

Veľkosť	%
<1 µm	36
>1 µm, <2 µm	60

Príklad 8

Zvierací model

Pri všetkých pokusoch sa používajú novozélandské biele králiky obidvoch pohlaví s hmotnosťou 2,5 až 3,5 kg. Po hladovaní počas 12 hodín sa každé zviera upokojí s 0,1 ml/kg Hypnormu (Janssen Pharmaceuticals, Belgicko), podaného intravenóznou injekciou, a 0,5 mg/kg Antropine (Kabi Pharmacia, Švédsko), podaného subkutánnou injekciou. Králiky sa anestetizujú s 20 mg/kg mebumalu, pričom anestézia sa ďalej udržiava, ak je to potrebné. Zvieratá sa oholia a uskutoční sa mediálna laparotómia. Potom sa testované zlúčeniny injekčne zavedú priamo do dvanástnika a peritoneálna dutina sa uzavrie. Rektálne podanie sa uskutočňuje pomocou injekčnej striekačky pripojenej k plastickej trubici, navrhnutej na použitie v rekte králika. Dávka sa kontroluje stanovením hmotnosti injekčnej striekačky a pripojenej trubice pred podaním testovaných zlúčenín a po tomto podaní.

Vzorky krvi s objemom 1 ml sa zachytia po 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 a 10 hodinách pomocou katétra zavedeného do ušnej tepny a zmiešajú s citrátom sodným na finálnu koncentráciu 0,04 mol. Skúmavky obsahujú vzorky udržiavané v ľade, pokiaľ sa neuskutoční odstreďovanie pri 800 g počas 10 minút. Anti-FXa aktivita v plazme sa určí pri počiatočnom stanovení veľkosti s použitím hovädzieho FXa (Kabi Pharmacia) a chromogenného substrátu S-2222.

Zrejmá biologická dostupnosť Fragminu^R po intraduodenálnom alebo rektálnom podaní sa vyjadruje ako podiel z plochy pod krivkou anti-FXa aktivity, to znamená ($AUC_{in-traduoden./rekt.}$) a ($AUC_{s.c.}$), pričom táto druhá hodnota je stanovená vo výške 5,14 ± 0,34 ľubovoľných jednotiek u králikov, ktoré obdržali subkutánnu injekciu Fragminu^R v dávke 2 mg/kg.

Biologická dostupnosť Fragminu^R v neprítomnosti lipidov

Biologická dostupnosť Fragminu^R po intraduodenálnom podaní v neprítomnosti systému lipidov sa testuje na 4 králikoch. Dva z králikov obdržia Fragmin^R v dávke 25 mg/kg ako prášok vložený do želatínovej kapsuly, ktorá sa umiestni v dvanástniku na úrovni vrátnika. Zostávajúce dva králiky obdržia Fragmin^R rozpustený vo fyziologickom roztoku chloridu sodného, ktorý sa zavedie injekciou priamo do dvanástnika v celkovej dávke 25 mg/kg. U žiadneho z týchto zvierat sa nepozoruje počas 8 až 10 hodín anti-FXa aktivita.

Biologická dostupnosť Fragminu^R po rektálnom podaní sa testuje na 3 králikoch. Fragmin^R sa rozpustí vo fyziologickom roztoku chloridu sodného a injekčne zavedie priamo do rekta v dávke 10 mg/kg. Dva z týchto králikov majú nestanoviteľnú anti-FXa aktivitu v krvnej plazme, ale u jedného sa prejavuje účinok 0,2 medzinárodnej jednotky na milimeter počas 45 minút, čo zodpovedá biologickej dostupnosti menšej ako 1 %.

Záver

Biologická dostupnosť Fragminu^R v neprítomnosti prísad zvyšujúcich účinok je menšia ako 1 %, po intraduodenálnom alebo rektálnom podaní.

Príklad 9

Intraduodenálna absorpcia Fragminu^R obsiahnutého v systéme lipidov podľa príkladov 5 až 7 sa testuje na 8 králikoch . Fragmin^R a systém lipidov sa zmiešajú s vodou v takom množstve, že sa vytvoria oddelené, jednotlivé lipidné častice a 10 minút potom sa zavedú do dvanástnika. Zloženie zmesi je toto: 1 diel hmotnostný Fragminu^R a lipidov a 1 diel hmotnostný destilovanej vody. Voda a systém lipidov sa intenzívne trepú počas 5 až 10 minút a potom sa zmes nechá stáť pri laboratórnej teplote ďalších 10 minút a potom sa injekčne zavedú do dvanástnika. Koncentrácia Fragminu^R je 2 % z hmotnosti lipidu. Všetky králiky obdržia dávku 25 mg/kg Fragminu^R, 1250 mg/kg lipidov a 1250 mg/kg destilovanej vody. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú úroveň anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,5 až 1,5 hodiny a je od 0,37 do 1,76 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 4,7 ± 3,0 %.

Záver

Intraduodenálna absorpcia Fragminu^R sa významne zvýši, pokiaľ sa zahrnie do systému lipidov, v porovnaní so systémom neobsahujúcim lipidy.

Príklad 10

Tento pokus je identický so štúdiou opísanou v príklade 9 s tým rozdielom, že Fragmin^R a systém lipidov sa zmieša s väčším množstvom vody. Zloženie zmesi je toto: 1 diel hmotnostný Fragminu^R a lipidov a 4 diely hmotnostné destilovanej vody. Koncentrácia Fragminu^R je 2 % z hmotnosti lipidu. Všetky králiky (n = 9) obdržia tieto dávky: 25 mg/kg Fragminu^R, 1250 mg/kg lipidov a 5000 mg/kg destilovanej vody (to znamená približne 5 ml). Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú úroveň anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,75 až 1,5 hodiny a je od 0,73 do 3,79 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 14,7 ± 5,6 %.

Záver

Intraduodenálna absorpcia Fragminu^R sa významne zvýši, pokiaľ systém lipidov obsahujúci Fragmin^R sa zmieša s vodou pred tým, ako sa injekčne zavedie do dvanástnika.

Príklad 11

Tento pokus je identický so štúdiou opísanou v príklade 10 s tým rozdielom, že Fragmin^R a systém lipidov sa zmiešajú so 4 dielmi fyziologického roztoku chloridu sodného, namiesto rovnakého množstva destilovanej vody. Toto sa uskutočňuje pri štúdii zisťujúcej, či iónová sila systému tvoreného Fragminom^R, lipidom a vodou má dajaký účinok na intraduodenálnu absorpciu Fragminu^R. Zmes má toto

zloženie: 1 diel hmotnostný Fragminu a lipidov a 4 diely hmotnostné fyziologického roztoku chloridu sodného. Koncentrácia Fragminu^R je 2 % z hmotnosti lipidov. Všetky králiky (n = 10) obdržia túto dávku: 25 mg/kg Fragminu^R, 1250 mg/kg lipidov a 5000 mg/kg fyziologického roztoku chloridu sodného. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú úroveň anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,75 až 1,5 hodiny a je v rozmedzí od 0,62 do 2,60 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 13,4 ± 7,3 %.

Záver

Intraduodenálna absorpcia Fragminu^R sa významne zvýši, pokiaľ sa systém obsahujúci Fragmin^R a lipid zmieša s fyziologickým roztokom chloridu sodného.

Príklad 12

Rektálna absorpcia Fragminu^R obsiahnutého v systéme lipidov sa testuje na 5 králikoch. Systém lipidov bez vody sa zavedie injekciou priamo do rekta v dávke 100 mg/kg, čo zodpovedá dávkovaniu 2 mg/kg Fragminu^R. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú úroveň anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 1,5 až 2,5 hodiny a je v rozmedzí od 0,53 do 1,98 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 67,0 ± 18,2 %.

Záver

Rektálna absorpcia Fragminu^R obsiahnutého v systéme lipidov bez prídavku vodného roztoku je výrazne vyššia ako rektálna absorpcia samotného Fragminu^R, rozpusteného vo fyziologickom roztoku chloridu sodného.

Príklad 13

Prídavok vonkajšej vody alebo fyziologického roztoku chloridu sodného k systému lipidov má kladný účinok na introduodenálnu absorpciu (pozri príklady 9, 10 a 11). Tento pokus sa uskutočňuje s cieľom stanoviť, či by podobný účinok mohol byť zrejmý po rektálnom podaní. Fragmin^R a systém lipidov sa zmiešajú so 4 dielmi fyziologického roztoku chloridu sodného, ako je opísané v príklade 11, desať minút pred podaním do rekta. Zloženie zmesi je takéto: 1 diel hmotnostný Fragminu^R a systému lipidov a 4 diely hmotnostné fyziologického roztoku chloridu sodného. Koncentrácia Fragminu^R je 2 % z hmotnosti lipidov. Prostriedok sa skúša na 7 + 7 králikoch pri dávke 2 a 5 mg/kg Fragminu^R. Dávka lipidu je 100 a 250 mg/kg, množstvo fyziologického roztoku chloridu sodného je 400 a 1000 mg/kg. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke uvedenej ďalej.

Dávka (mg/kg)	AUC(IU/ml.h)	C_{max} (IU/ml)	Absorpcia (%)
2	4,4	1,43 ± 0,51	85,6 ± 29,7
5	11,8	2,89 ± 0,78	91,6 ± 30,0

Záver

Rektálna absorpcia Fragminu^R obsiahnutého v systéme lipidov a zmiešaného s vonkajším roztokom chloridu sodného je takmer tak vysoká, ako sa pozoruje po subkutánnej injekcii, ktorá je v súčasnom období najpoužívanejšou cestou na podávanie Fragminu^R. Rektálna absorpcia Fragminu^R ukazuje dobrú proporcionalitu dávky, ako 2,5-násobné zvýšenie výsledkov dávkovania, pri podobnom zvýšení AUC a C_{max}, i keď absorpčná rýchlosť je konštantná.

Príklad 14

Vo všetkých opísaných pokusoch je Fragmin^R obsiahnutý v systéme lipidov pred pridaním vody alebo fyziologického roztoku chloridu sodného do systému. V ďalej uvedených pokusoch sa používa celkom rovnaký systém lipidov, ale bez zahrnutia Fragminu^R. Tento systém lipidov bez Fragminu^R bude v ďalšej časti označovaný ako "placebové lipidy".

Inraduodenálna absorpcia Fragminu^R zmiešaného s placebovými lipidmi sa testuje na 7 králikoch. Práškový Fragmin^R sa rozpustí vo fyziologickom roztoku chloridu sodného na konečnú koncentráciu 5 mg/ml (0,5 %). 4 diely hmotnostné tohto Fragminového^R roztoku sa zmiešajú s 1 dielom hmotnostným placebových lipidov. Koncentrácia Fragminu^R v tejto zmesi je 2 % z hmotnosti lipidu, čo predstavuje rovnaký pomer Fragminu^R k lipidom ako v príkladoch 11 až 15. Zmes sa intenzívne pretrepáva počas 5 až 10 minút alebo sa podrobí pôsobeniu ultrazvuku s vhodnou vlnovou dĺžkou v čase predchádzajúcom intraduodenálnej injekcii. Všetky králiky obdržia túto dávku: 25 mg/kg Fragminu^R, 1250 mg/kg lipidov a 5000 mg/kg destilovanej vody. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú hladinu anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,5 až 2,0 hodiny a je v rozmedzí od 0,53 do 3,55 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 13 ± 8 %.

Záver

Tento pokus ukazuje, že Fragmin^R nemusí byť bezpodmienečne obsiahnutý v systéme lipidov pred pridaním vody, aby sa dosiahla absorpcia v dvanástniku. Zmes placebových lipidov a vody alebo roztoku chloridu sodného, obsahujúci rozpustený Fragmin^R, sa absorbuje v podobnom stupni. Priaznivé výsledky sa dosiahnu tak pri trepaní, ako i pri pôsobení ultrazvuku na prostriedok.

Príklad 15

Rektálna absorpcia Fragminu^R zmiešaného s placebovými lipidmi sa testuje na 6 králikoch. Zmes sa pripraví ako je opísané v príklade 14 a zavedie rektálnou injekciou v tejto dávke: 2 mg/kg Fragminu^R, 100 mg/kg lipidov a 400 mg/ml fyziologického roztoku chloridu sodného. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľnú hladinu anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,5 až 2,0 hodiny a je v rozmedzí od 0,59 do 1,95 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 64,2 ± 31 %.

Záver

Tento pokus v súlade s príkladom 14 ukazuje, že Fragmin^R nemusí byť bezpodmienečne na začiatku obsiahnutý v lipidnom systéme, aby sa dosiahla absorpcia z rekta. Zmes placebových lipidov a roztoku chloridu sodného, obsahujúci rozpustený Fragmin^R, sa taktiež absorbuje vo vyššom stupni ako vo Fragmine^R bez lipidov (porovnaj s príkladom 13).

Príklad 16

Rektálna absorpcia Fragminu^R zmiešaného s komerčne dostupnými lipidmi sa testuje na 4 králikoch. K tomu sa použijú tieto komerčne dostupné lipidy: IMWITOR MG 742 (od firmy MG Huls AG, ktorý obsahuje približne 50 % monoglyceridov a 50 % diglyceridov a triglyceridov s acylovými radikálmi v podstate odvodenými od kyseliny kaprylovej a kyseliny kaprínovej) a fosfatidylcholín Zigma PC (P-5394 od firmy Sigma, ktorý obsahuje 84 % PC, 13 % PE a 3 % iných zložiek). Komerčne dostupné lipidy

sa zmiešajú s fyziologickým roztokom chloridu sodného, ako je opísané v príkladoch 14 a 15 a zavedú rektálnou injekciou v týchto dávkach: 2 mg/kg Fragminu^R, 100 mg/kg lipidov a 400 mg/ml fyziologického roztoku chloridu sodného. Dva zo 4 králikov pri tomto pokuse majú nestanoviteľnú hladinu anti-FXa v plazme a dva dosahujú hladinu v rozmedzí od 0,13 až 0,25 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota absorpcie pri tomto pokuse je 0,7 ± 1,5 % (vrátane králikov s nestanoviteľnou absorpciou).

Záver

Pokiaľ sa vysoko definovaný systém lipidov zamení za surové lipidy, z ktorých lipidy neboli vyčistené, pozoruje sa výrazný pokles rektálnej absorpcie, čo dokladá, že zvýšená absorpcia opísaná v rade príkladov uvedených nie je všeobecným účinkom lipidov, ale môže sa pripísať účinku systému lipidov.

Príklad 17

Množstvo Fragminu^R vo vzťahu k množstvu lipidov je v príkladoch opísaných vždy 2 mg/kg telesnej hmotnosti na 100 mg/kg telesnej hmotnosti. Ďalej opísaný pokus je určený na štúdium rektálnej absorpcie ako funkcie pomeru Fragminu^R a lipidu. Jedna časť placebového systému sa zmieša so 4 dielmi fyziologického roztoku chloridu sodného, ktorý obsahuje Fragmin^R, ako je opísané v príklade 16 s tým rozdielom, že čas skladovania je 16 hodín. Vyšší pomer Fragminu^R a lipidu sa dosiahne zvýšením množstva Fragminu^R rozpusteného v roztoku chloridu sodného. Ďalej uvedené prostriedky sa testujú vzhľadom na rektálnu absorpciu.

Skupina	Počet	Fragmin^R/lipid mg/kg	Pomer mg Fragminu^R na 100 mg lipidu	Fyziologický roztok, mg/kg
1	(n = 8)	2:100	2	400
2	(n = 9)	2:50	4	200
3	(n = 8)	2:25	8	100
4	(n = 7)	2:10	20	40
5	(n = 8)	2:5	40	40*
6	(n = 8)	2:2,5	80	40*
7	(n = 4)	2:1	200	15*

* z praktických dôvodov (veľmi malé objemy) sa nemôže udržať konštantná koncentrácia lipidov

n počet testovaných králikov

Dosiahnu sa tieto výsledky:

Skupina č.	Pomer Fragmin^R/lipid	AUC	C_{max} IU/ml	Absorpcia %
1	2	3,0 ± 1,3	1,1 ± 0,4	53,2 ± 9,4
2	4	3,6 ± 1,1	1,1 ± 0,4	74,3 ± 17,3
3	8	4,6 ± 1,5	1,6 ± 0,5	86,0 ± 27,2
4	20	3,2 ± 1,4	1,3 ± 0,4	73,5 ± 18,1
5	40	3,7 ± 1,2	1,3 ± 0,6	80,1 ± 12,9
6	80	2,0 ± 1,1	0,6 ± 0,3	48,5 ± 20,9
7	200	1,0 ± 0,6	0,3 ± 0,2	20,7 ± 11,4

Záver

Všetky testované prostriedky s Fragminom^R a lipidom poskytujú vysokú rektálnu absorpciu, čo ukazuje, že koncentrácia Fragminu^R a lipidov v opísanom systéme vedie ku zvýšenej absorpcii, v porovnaní s Fragminom^R bez lipidov. Lipidový prostriedok má zlepšený účinok na rektálnu absorpciu Fragminu^R.

Príklad 18

Fragmin^R je nízkomolekulárny heparínový fragment, vyrobený z heparínu ošípanej riadeným depolymerizačným postupom s použitím kyseliny dusičnej. Rôzni výskumní pracovníci ukázali, že heparín sa slabo absorbuje (<1 %) po vytvorení podmienok na orálnu alebo intraduodenálnu absorpciu. Cieľom predloženej štúdie bolo zistiť, či by systém lipidov mohol zvýšiť rektálnu absorpciu heparínu. Pokusný postup je úplne rovnaký, ako je opísaný v príklade 14 s tým rozdielom, že Fragmin^R sa zamení za heparín. Osem králikov obdrží tieto dávky: 2 mg/kg heparínu, 100 mg/kg lipidov a 400 mg/kg destilovanej vody. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľné hladiny anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,5 až 2,0 hodiny a je v rozmedzí od 0,12 do 0,53 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 15,7 ± 8 %.

Záver

Rektálna absorpcia heparínu sa významne zvýši, pokiaľ sa roztok heparínu zmieša so systémom lipidov. Stupeň absorpcie je však výrazne nižší ako u Fragminu^R, pokiaľ sa porovnanie uskutočňuje za rovnakých podmienok. To ukazuje, že existuje závislosť veľkosti alebo špecifického vzájomného pôsobenia v absorpčnom modele molekúl pochádzajúcich z heparínu, čo umožňuje navrhnúť a ovládať prostriedky určené na podávanie.

Príklad 19

Všetky vzorky až dosiaľ opísané sa zavádzajú vo forme injekcie 10 minút po príprave prostriedku obsahujúceho Fragmin^R, lipid a vodu.

Na 3 králikoch, ktoré dostanú prostriedok pozostávajúci z lipidu a roztoku chloridu sodného, ktorý obsahuje 4 % Fragminu^R, sa preskúša stanovenie, či časový interval medzi prípravou prostriedku a jeho podaním má dajaký vplyv na absorpciu alebo tento vplyv nemá.

Zmes sa vyrobí ako v príklade 14 s tým rozdielom, že sa nechá stáť počas 16 hodín pred tým, ako sa podá rektálnou injekciou dávka 2 mg/kg telesnej hmotnosti Fragminu^R, 50 mg/kg telesnej hmotnosti lipidov a 200 mg/kg telesnej hmotnosti fyziologického roztoku chloridu sodného. Všetky králiky pri tomto pokuse majú stanoviteľné hladiny anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,5 až 2,0 hodiny a je v rozmedzí od 0,72 do 1,90 medzinárodných jednotiek na mililiter, s priemerom 1,12 medzinárodnej jednotky na mililiter. Priemerná hodnota pri tomto pokuse je 65 %.

Záver

Údaje dokazujú, že potom ako sa prostriedok pripravil, môže sa podávať po ponechaní v pokoji počas rôzneho časového obdobia bez významného vplyvu na absorpčné vlastnosti.

Príklad 20

Pokusy in vitro sa uskutočňujú kvôli štúdiu vplyvu lipidných prostriedkov na Fragminom^R vyvolanú anti-FXa aktivitu z hľadiska času skladovania. Fragmin^R sa zapraví do systému lipidov vymedzeného v príkladoch uvedených. Koncentrácia Fragminu^R je 2 % z hmotnosti lipidov. Jeden diel hmotnostný Fragminu^R a lipidu a 4 diely hmotnostné destilovanej vody sa zmiešajú trepaním a potom sa nechajú stáť počas 6 týždňov. Počas tohto obdobia sa pravidelne skúša účinok Fragminu^R. Počiatočný účinok je 85 medzinárodných jednotiek na mg (pre sériu 1) a 78 medzinárodných jednotiek na mg (pre sériu 2), pričom po 6 týždňoch účinok je 96 medzinárodných jednotiek na mg (pre sériu 1) a 85 medzinárodných jednotiek na mg (pre sériu 2).

Záver

Výsledky ukazujú, že účinok Fragminu^R sa udržiava počas predĺženého skladovania prostriedku.

Príklad 21

Rovnaký postup ako v príklade 19 sa uskutoční na 4 králikoch s prostriedkom obsahujúcim lipid a roztok chloridu sodného, v ktorom sú obsiahnuté 2 % Fragminu^{R}. Podávaná dávka Fragminu^{R} je 2 mg/kg, so 100 mg/kg lipidov a 200 mg/kg roztoku chloridu sodného. Všetky zvieratá majú stanoviteľné hladiny anti-FXa aktivity v plazme. Maximálna koncentrácia v plazme (C_{max}) sa dosiahne za 0,75 až 1,5 hodiny a je v rozmedzí od 0,82 do 0,86 medzinárodných jednotiek na mililiter, so strednou hodnotou 0,86 medzinárodných jednotiek na mililiter. Priemerná absorpcia pri tomto pokuse je okolo 48 %.

Záver

Disperzia sa ľahko podáva, upravuje na vypočítané objemy a prejavuje zvýšenú absorpciu Fragminu^{R}.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Farmaceutický prostriedok obsahujúci:
i) systém lipidov, ktorý obsahuje najmenej dve lipidné zložky, pričom najmenej jedna z lipidných zložiek je amfifatická, polárna a vytvára dvojvrstvu vybranú z fosfatidylcholínu a iných fosfolipidov a je prítomná v množstve od 1 do 90 % hmotn. vytiahnuté na systém lipidov, a jedna je nepolárna lipidná zložka zvolená zo súboru mono-, di- alebo triglyceridov, ktoré majú definovanú dĺžku reťazca v rozmedzí od 6 do 18 atómov uhlíka,
ii) terapeuticky účinné množstvo heparínu alebo jeho fragmentu alebo derivátu, ktorý je prítomný v množstve od 1 do 200 % hmotn. vztiahnuté na systém lipidov, **vyznačujúci sa tým**, že ďalej obsahuje vodu obsahujúce rozpúšťadlo, ktoré je prítomné v množstve potrebnom na vytvorenie jednotlivých a oddelených lipidných častíc.

2. Prostriedok podľa nároku 1, **vyznačujúci sa tým**, že je upravený na orálne, rektálne, bukálne, sublinguálne, nasálne, subkutánne alebo transdermálne použitie alebo na podanie sliznicami a obsahuje vhodné excipienty na každý príslušný spôsob podania.

3. Prostriedok podľa nároku 1 alebo 2, **vyznačujúci sa tým**, že amfifatické a polárne lipidné zložky sú prítomné v množstve od 1 do 50 % hmotn. vztiahnuté na systém lipidov.

4. Prostriedok podľa nároku 1 alebo 2, **vyznačujúci sa tým**, že nepolárna lipidná zložka pozostáva buď z:
a) triglyceridov tvorených v podstate zmesou 8 : 0 kaprylátu a 10 : 0 kaprátu a/alebo
b) diglyceridov tvorených v podstate zmesou 8 : 0 kaprylátu a 10 : 0 kaprátu a/alebo,
c) monoglyceridov tvorených v podstate zmesou 8 : 0 kaprylátu a 10 : 0 kaprátu.

5. Prostriedok podľa niektorého z nárokov 1 až 4, **vyznačujúci sa tým**, že amfifatickými a polárnymi lipidnými zložkami je fosfatidylcholín a nepolárnou zložkou je monoglycerid, ktorý pozostáva v podstate z 8 : 0 kaprylátu a 10 : 0 kaprátu.

6. Prostriedok podľa niektorého z nárokov 1 až 5, **vyznačujúci sa tým**, že heparín alebo jeho fragment alebo derivát je prítomný v množstve od 4 do 80 % hmotn. vztiahnuté na systém lipidov.

7. Prostriedok podľa niektorého z nárokov 1 až 6, **vyznačujúci sa tým**, že heparínom je fragment s nízkou molekulovou hmotnosťou, s molekulovou hmotnosťou od približne 2000 do 10 000 Da.

8. Lokálny prostriedok, **vyznačujúci sa tým**, že obsahuje prostriedok podľa niektorého z nárokov 1 až 7 a vhodné excipienty.

9. Použitie prostriedku podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov 1 až 8, na výrobu prostriedku na orálne, bukálne, sublinguálne, rektálne alebo transdermálne podanie alebo podanie sliznicami.

10. Prostriedok podľa nárokov 1 až 8 na použitie na zvýšenie antitrombotického účinku v krvnej plazme a/alebo lýzy vopred vytvorenej krvnej zrazeniny.

11. Prostriedok podľa nárokov 1 až 8 na použitie na prevenciu a/alebo ošetrovanie ateroskleródzy.

12. Prostriedok podľa nárokov 1 až 8 na použitie na ošetrovanie ischemických srdcových chorôb a príbuzných vaskulárnych chorôb.

13. Prostriedok podľa nárokov 1 až 8 na použitie na ošetrovanie zápalov.

Koniec dokumentu