



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: 1054/91
(22) A bejelentés napja: 1991. 03. 29.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/502,382 1990. 03. 30. US

(40) A közzététel napja: 1992. 07. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2001. 05. 28.

(11) Lajstromszám:

219 584 B

(51) Int. Cl.⁷

A 61 K 9/16

A 61 K 9/10

A 61 K 38/27

A 61 K 38/00

(72) Feltaláló:

Steber, William, Ledgewood, New Jersey (US)

(73) Szabadalmaz:

American Cyanamid Co., Stamford,
Connecticut (US)

(74) Képviseelő:

Baranyi Éva, DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54)

Eljárás parenterális adagolásra alkalmas stabil gyógyászati készítmények előállítására

KIVONAT

A találmány parenterális adagolásra alkalmas stabil mikrogömbökből álló készítmények előállítására vonatkozik. A készítmények zsírt vagy viaszt vagy ezek keveré-

két, biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet, valamint olajat, féllágy zsírt, zsírsavszármazékot vagy ezek keverékét tartalmazzák.

A 4,837,381. számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás egy parenterális adagolásra alkalmas mikrogömbkészítményt ismertet, amely zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét és egy biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet tartalmaz. Az idézett szabadalmi leírásból kitűnik, hogy mennyire hasznos parenterális adagolás esetén, ha egy készítmény lassan adja le a fehérjét, peptidet vagy polipeptidet. A dokumentum különböző eljárásokat tárgyal arra vonatkozólag, hogyan lehet a kezelt állatokban hosszú ideig a vér növekedési hormonszintjét növelni és a növelt értéket fenntartani, és ezáltal tömegnövekedést és a tejelő állatoknál nagyobb tejtermelést elérni oly módon, hogy a találmány szerinti készítményt adagolják.

A biológiailag aktív makromolekulákat tartalmazó készletetett hatóanyag-leadású gyógyászati készítmények előállításánál számos speciális probléma jelentkezik, a makromolekulák mérete és bonyolultsága miatt, különösen fehérjék esetén. Ezek ugyanis hajlamosak arra, hogy gyógyászati segédanyagokkal összekeverve a feldolgozás és tárolás során kémiai és szerkezeti változásokat szenvedjenek. Az ezzel kapcsolatos problémákat a gyógyszerkészítmények előállításában jártas szakember jól ismeri, ezeket a kémiai stabilizálással kapcsolatos problémákként jelölhetjük. A gyógyászati készítmények nem megfelelő kémiai stabilitása, amely abból ered, hogy a makromolekulák szerkezete irreverzibilis változást szenved és/vagy a segédanyagokkal kölcsönhatás jön létre, azt eredményezheti, hogy a készítmények vagy inaktívvá válnak vagy nem eredményezik a megfelelő biológiai hatást.

A gyógyászati készítményeknél egy másik problémakör a fizikai stabilitás kérdése. Erre nyilvánvaló példa a tabletták vagy implantációra alkalmas készítmények elkopása a feldolgozás, csomagolás vagy tárolás során. Ugyancsak erre példa a krémek, paszták vagy gélek fizikai szétválása a komponenseikre, amely azt eredményezheti, hogy a hatóanyag heterogén módon oszlik el, és a konzisztencia is változik. A készítmények ilyen fizikai károsodásának következménye az lehet, hogy a készítmény nem olyan könnyen használható fel, és másrészt a betegnek előre nem meghatározható dózist adagolunk. A gyógyászati készítmények kevésbé nyilvánvaló fizikai változásai közül megemlíthjük a vivőanyagok kristályos vagy mikroszkopikus szerkezetének különféle változásait. Az ilyen típusú változások a hatóanyag-leadásban jelentős eltéréseket okozhatnak. Nem lehet kétséges, hogy a gyógyszerészeti adagolási formák fizikai stabilitása akár orális, akár parenterális adagolásról van szó, különösen problematikus készletetett hatóanyag-leadású készítmények esetén. A kereskedelmiértékes készletetett hatóanyag-leadású gyógyszerészeti adagolási formáknál alapvető követelmény, hogy az egyes gyártási tételek során, valamint viszonylag hosszú tárolás után is megtartsák hatóanyag-leadási tulajdonságaikat. A gyógyászati adagolási formák fizikai stabilitásán mind a külső kezeléssel kapcsolatos jellemzők, például a keménység, önthetőség vagy viszkozitás állandóságát, mind a farmakológiai tulajdonságok állandóságát értjük.

A találmányunk célja parenterális adagolásra alkalmas stabil készítmények előállítása. Ugyancsak találmányunk célja ezen stabil készítmények előállítására egy új eljárás kidolgozása. Találmányunk további célja olyan mikrogömbkészítmények előállítása, amelyek használatra kész, jól tárolható készítményként csomagolhatók. Ezen célok elérésének módját a következőkben világítjuk meg.

Találmányunk szerint parenterális adagolásra alkalmas, nem várt módon stabil mikrogömbkészítményeket állítunk elő. A készítmény mintegy 30–95 tömeg% zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét, mintegy 2–70 tömeg% biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet, és mintegy 1–30 tömeg% olajat, féllágy zsírt, zsírsavszármazékot vagy ezek keverékét tartalmazza.

A találmány szerint a rendkívül stabil készítményeket szobahőmérsékleten állítjuk elő. Meglepő módon azt találtuk, hogy kis mennyiségű olaj, féllágy zsír vagy zsírsavszármazék hozzáadása a zsírok és/vagy viaszok és a biológiailag aktív fehérje, peptid vagy polipeptid keverékéhez a porlasztva szilárdítás (prilling) előtt, az alfa-kristályszerkezet gyors átalakulását eredményezi béta formává. Mivel a béta alak sokkal stabilabb, a találmány szerinti készítményeknek lényegesen nagyobb a stabilitása. A találmány szerinti felismerés annál meglepőbb, mivel bizonyos olajokat már alkalmaztak ismert készítményekben, vivőanyagban a porlasztva szilárdítás után, de az nem eredményezett gyorsított kristályszerkezet-átalakulást.

A találmány szerint előállított készítmények alkalmasak parenterális adagolásra állatok számára. A biológiailag aktív fehérjék, peptidek vagy polipeptidek közül megemlíthjük a növekedési hormonokat, a szomatomedineket, a növekedési faktorokat és ezek egyéb, biológiailag aktív fragmenseit vagy származékait.

A találmány szerint előállítunk egy olyan mikrogömbökből álló készítményt, amely felhasználásra kész formában csomagolható, és igen jól tárolható a megnövekedett stabilitása miatt.

A találmány szerint előállított készítményekben alkalmazható viaszok és zsírok általában azok, amelyek olvadáspontja nagyobb mint 40 °C. A találmány értelmében a viaszt úgy definiálhatjuk, mint ahogy az a Hawlwy's *The Condensed Chemical dictionary*, 11. kiadás, irodalmi helyen található, vagyis a viasz alacsony olvadáspontú, nagy molekulatömegű szerves elegy vagy vegyület, amely szobahőmérsékleten szilárd, és összetétele általában hasonló, mint a zsíroké vagy olajoké, azzal az eltéréssel, hogy nem tartalmaz glicerideket. A viaszok lehetnek szénhidrogének vagy zsírsavak és alkoholok észterei. A vegyületek közé tartoznak a telített vagy telítetlen, hosszú szénláncú 10–24 szénatomos zsírsavak, alkoholok, észterek, sók, éterek vagy ezek keverékei. A viaszokat a lipidek közé soroljuk. A viaszok hőre lágyulók, de mivel nem nagy molekulatömegű polimerek, nem tekintjük ezeket műanyagoknak. Közös tulajdonságaik a víztaszítás, a sima textúra, az hogy nemtoxikusak és mentesek kellemetlen szagtól vagy színtől. A viaszok éghetőek és jók a dielektromos tulajdonságaik. A legtöbb szerves oldószert

ben oldhatóak, vízben oldhatatlanok. A főbb típusaik a következők.

I. Természetes viaszok:

1. Állati (méhviasz, lanolin, sellak, kínai rovarviasz);
2. Növényi eredetűek (carbauba, candelilla, viaszbokor, cukornád eredetűek);
3. Ásványi:
 - a) fosszilis vagy földi viaszok (ozokerit, cerezin, montán);
 - b) kőolajból származó viaszok (paraffin, mikrokristályos viaszok); (paraffingács vagy pikkelyes, nyersparaffin);

II. Szintetikus viaszok:

1. Etilénpolimerek és poliál-éter-észterek („Carbowax”, szorbítszármazék);
2. Klórozott naftalinok („Halowax”);
3. Szénhidrogén típusúak Fischer–Tropsch-szintézissel.

A találmány értelmében zsírokat a Hawley's *The Condensed Chemical Dictionary* 11. kiadás, irodalmi hely szerint definiáljuk, vagyis a zsírok hosszú szénláncú zsírsavak, például sztearinsav vagy palmitinsav glicerín-észterei. Ezek az észterek és keverékeik szobahőmérsékleten szilárdak és kristályszerkezetűek. Ezek közé tartozik a disznózsír és a faggyú. A zsírok és olajok között kémiai különbség nincsen, az egyetlen különbség az, hogy szobahőmérsékleten a zsírok szilárdak, és az olajok folyékonyak. Általában a „zsír” kifejezést szűkebb értelemben a trigliceridekre használjuk.

A zsírok előnyösen hosszú szénláncú 10–24 szénatomos zsírsavak mono-, di- vagy triglicerin-észterei. A mono-, di- vagy trigliceridek főként sztearátokból, palmitátokból, laurátokból, linolátokból, linollenátokból, oleátokból és ezek maradékaiból vagy keverékeiből állnak, olvadáspontjuk legelőnyösebben nagyobb mint 50 °C. A legelőnyösebb zsír a gliceril-trisztearát. Ugyancsak megfelelőek a zsírsavak lipofil sói, például a magnézium-sztearát és hasonló vegyületek.

A találmány szerint az olaj, a féllágy zsír vagy zsírsavszármazék olyan anyag, amely oldódik a megolvadt keményszírban és amely gyorsítja a keményszír kristályszerkezetének fizikai átalakulását a kevésbé stabil alakból a stabilabb alakba szobahőmérsékleten vagy a körüli hőmérsékleten, miután a megolvadt keményszírt vagy viaszt porlasztva megszilárdítottuk. Előnyösen az olaj vagy féllágy zsír tartalmazhat viszonylag tiszta mono-, di- vagy triglicerin-észtereket vagy ezek rövid vagy közepes szénláncú zsírsavakkal, vagyis 2–18 szénatomos zsírsavakkal alkotott keverékét. Féllágy zsírokon olyan glicerín-észtereket értünk, amelyek olvadáspontja szobahőmérséklet körüli. Zsírsavszármazékokon rövid vagy közepes szénláncú zsírsavakat, alkoholokat, észtereket, étereket, sókat vagy ezek keverékét értjük. Különösen alkalmasak a gliceridolajok, például a trigliceril-butirát, a gliceril-monoizosztearát, a gliceril-monooleát vagy a kaprinsav és kaprinsav vegyes triglicerin-észterei és a féllágy zsírok, például a kaprinsav és a laurinsav mono-, di- és vegyes trigliceridjei, mivel ezek a test fiziológiai

alkotórészei, ezért biokompatibilisek és biodegradálhatók.

A találmány szerint előállított mikrogömböket gyógyszerészetileg és gyógyászatilag elfogadható folyadékban diszpergáljuk, és így egy parenterális adagolásra alkalmas lassú hatóanyag-leadású gyógyszerkészítményt kapunk. A vivőanyag lehet vizes puffertolt rendszer vagy olajrendszer. Az olajrendszer származhat növényi vagy állati forrásokból vagy lehet szintetikus is. Az előnyös vivőanyagok közül megemlítjük a semleges mono-, di- vagy trigliceridfolyadékokat vagy ezek keverékeit. Semleges olajon olyan olajat értünk, amely nem tartalmaz visszamaradó savat. A találmány szerinti gyógyszerkészítményekben alkalmazható vivőanyagok közé tartoznak a vizes rendszerek is, például a puffertolt sóoldatok, valamint szerves oldószerek, például glikolok és alkoholok. Ezenkívül vivőanyagnak számítanak a vízzel nem elegyedő folyadékok, például olajok, annak függvényében, hogy az adagolandó hatóanyag miben oldódik.

A találmány szerint előállított mikrogömbkészítményekben történő adagolásra alkalmas biológiailag aktív fehérjék, peptidek és polipeptidek közül megemlítjük a növekedési hormonokat, a szomatomedineket, a növekedési faktorokat és idetartoznak ezek egyéb, biológiailag aktív fragmensei és származékai is. Az előnyös fehérjék közül megemlítjük a szarvasmarha-, juh-, ló-, sertés-, madár- és humán növekedési hormonokat, ezek magukban foglalják mind a természetes, mind a szintetikus, rekombináns technikával vagy bioszintetikus úton előállított ilyen hormonokat. A találmány szerinti készítmény tartalmazhat ezenkívül a biológiailag aktív fehérjékhez, peptidekhez vagy polipeptidekhez kapcsolódó fémeket vagy fémvegyületeket, ezenkívül savakkal alkotott sókat, származékokat és komplexeket, valamint hidratációt gátló szereket.

A találmány szerint előállított mikrogömbkészítmény adott esetben tartalmazhat stabilizátorokat, konzerválószerkeket, felületaktív anyagokat, sókat, puffereket vagy ezek keverékét is. Az előnyös stabilizálószerkeket közül példaként megemlítjük a dehidroecetsavat, a szalicil-anilidet, szorbinsavat, bórsavat, benzoetsavat és ezek sóit, valamint a nátrium-nitritet és a nátrium-nitrátot. Kívánt esetben ezekből az anyagokból a találmány szerint előállított mikrogömbkészítmény 0,1–20 tömeg%-ot tartalmaz. A biológiailag aktív makromolekulákat tartalmazó, találmány szerint előállított mikrogömbkészítményhez felületaktív anyagként előnyösek a nemionos felületaktív anyagok, például a polioxi-etilén-szorbitál-monooleát (amely 20 mol etoxicsoportot tartalmaz), valamint az etilén-oxid és propilén-oxid blokk-kopolimerjei. A találmány szerint előállított mikrogömbkészítmény felületaktív anyagokból 0,1–10,0 tömeg%-ot tartalmazhat.

Azt találtuk, hogy a vér növekedési-hormon-szintje megnő, és ez hosszú időre fenntartható – ami tömegnövekedést és nagyobb tejtermelést okozhat tejtermelő állatokban – oly módon, hogy a találmány szerinti mikrogömbkészítményt megfelelő vivőanyagban az állatoknak injektáljuk. Megfigyelhető, hogy a vérben nő a biológiailag aktív fehérjék, peptidek és polipeptidek szintje,

és ez jótékony és/vagy gyógyászati hatással társul. A hatások közé tartozik a tömegnövekedés, a megnövekedett növekedési sebesség, a nagyobb tejtermelés tejelő állatok esetén, továbbá az, hogy több tej áll rendelkezésre a kezelt állatok utódjainak táplálására, nőnek az izomméretük, javul a táplálkozás hatékonysága, csökken a test zsírtartalma és javul a soványhús-zsír arány. A megnövekedett vérszint fenntartása azt jelzi, hogy a hatóanyagot a készítmény lassan adja le. Az előnyös tulajdonságokat, vagyis a nagyobb tejtermelést, növekedési sebességet, jobb táplálékhasznosulást és a sovány hús növekedését általában akkor figyelhetjük meg, ha a hatóanyag magasabb vérszintje hosszabb ideig fennmarad. A találmány szerint előállított mikrogömbkészítményt a tejtermelés növelésére, a növekedési sebesség növelésére, a tápanyag-hasznosulás javítására, az állatokban a soványhús-tartalom növelésére és az állatok véráramában a hormonszint növelésére és a magasabb szint fenntartására lehet felhasználni.

A találmány értelmében előnyösen járunk el, ha a biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet zsír- vagy viasz-mikrogömbökbe és olajba vagy féllágy zsírba dolgozzuk be, amely adott esetben tartalmazhat egy vagy több fent ismertetett segédanyagot, majd az egészet vivőanyagban diszpergáljuk. A mikrogömbök, előnyösen zsírmikrogömbök átmérője legfeljebb 1000 μm , előnyösen átlagos átmérőre 25 és 300 μm közötti, ez ugyanis parenterális adagoláshoz a legelőnyösebb. A legfeljebb mintegy 70 tömeg% biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet tartalmazó mikrogömbök különböző ideig mutatnak késleltetett hatóanyag-leadást, a hatóanyag oldhatóságának és az alkalmazott viasznak vagy zsírnak, felületaktív anyagnak, puffernek és vivőanyagnak a függvényében.

A találmány legtágabb értelmében egy lassú hatóanyag-leadású, beadásra kész gyógyszerkészítményt állítunk elő, amely zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét, egy biológiailag aktív fehérje, peptid vagy polipeptid hatóanyagot és egy olajat, féllágy zsírt, zsírsavszármazékot vagy ezek keverékét tartalmazza gyógyászatiilag és gyógyszerészetileg alkalmas vivőanyagban diszpergálva. A lassú hatóanyag-leadású gyógyszerkészítményben mikrogömbök és bevont fehérjerészecskék lehetnek jelen. A készítmény állhat a zsírban vagy viaszban oldott fehérjéből, vagy a hatóanyag, valamint a zsír vagy viasz között lehetnek hidrofób kölcsönhatások vagy kötések. Hormonok adagolására a készítmény mintegy 1–70 tömeg% növekedési hormont, szometomedint, növekedési faktort vagy ezek biológiailag aktív fragmensét vagy származékát tartalmazza, amelyek átlagos részecskemérete 20 μm alatti, tartalmaz továbbá mintegy 5–60 tömeg%, előnyösen 10–48 tömeg% zsírt, viaszt vagy ezek keverékét; mintegy 1–30 tömeg%, előnyösen 1–20 tömeg% olajat és adott esetben legfeljebb 15 tömeg% segédanyagot, például felületaktív anyagot, stabilizátort, konzerválószeret, sókat vagy puffereket vagy ezek keverékét, és megfelelő mennyiségű gyógyszerészetileg és gyógyászatiilag alkalmas folyékony vivőanyagot, amellyel a készítményt

100 tömeg%-ig kiegészítjük. Vivőanyagként a fent ismertetett vizes puffert vagy olajos rendszert alkalmazhatjuk.

Növekedési hormonok, például szarvasmarha-növekedési hormon parenterális adagolására előnyösek az olyan mikrogömbök, amelyek az olajon, féllágy zsíron, zsírsavszármazékon vagy ezek keverékén kívül mintegy 5–40 tömeg%, előnyösen 20 μm -nél kisebb átlagos részecskeméretű szilárd hormont, legfeljebb 20 tömeg% egyéb segédanyagot tartalmaznak mintegy 40–95 tömeg% zsírban, viaszban vagy ezek keverékében, amelyek átlagos részecskemérete 25–300 μm . Az ilyen készítmények késleltetve adják le a hormont és hosszú ideig, mintegy 2 hétig megnövelik a tejelő tehenek tejtermelését. Az ilyen előnyös készítményekkel olyan mértékig sikerül megnövelni a tejtermelést, mint amit szarvasmarha-növekedési hormon naponta végzett injektálásával kapunk.

Vízben oldható fehérjéket, peptideket vagy polipeptideket például szarvasmarha-növekedési hormont tartalmazó gyógyszerkészítmény adagolásához előnyösek a vízzel nem elegyedő folyadékok, még előnyösebbek az olajok vagy folyékony zsírok és a vízzel nem elegyedő alkoholok és glikolok, valamint ezek elegyei. A vivőanyagot úgy választjuk meg, hogy az egyrészt diszpergálja és bevonja a mikrogömbök elegyét, másrészt megfelelő viszkozitást biztosítson az injektálandó elegynek. Kiválasztásukhoz figyelembe vesszük a HLB-értékeket (hidrofil-lipofil egyensúly), valamint a viszkozitást.

A találmány szerint előállított készítményhez vivőanyagként tehát a fentieket figyelembe véve alkalmazhatunk zsírsav-glicerideket és ezek keverékét, amelyek szobahőmérsékleten folyékonyak, beleértve a szintetikus olajokat és növényi olajokat, például az olívaolajat, szezámolajat, mogyoróolajat, napraforgómagolajat, szójababolajat, gyapotmagolajat, kukoricaolajat, porsáfrány-, pálma-, repce- és kókuszdióolajat, de alkalmazhatunk állati olajat, például halolajat, halmájolajat, spermaolajat vagy ezekből származó frakciókat és azok keverékét, amelyek HLB-értéke 1 és 5 közötti, viszkozitása 10 és 1000 cps közötti Brookfield RTV viszkoziméterrel mérve egy #1 orsót használva.

A találmány szerint a mikrogömböket úgy állítjuk elő, hogy a kívánt részecskeméretű hatóanyagot és a többi segédanyagot olvadt zsírral, viasszal vagy azok keverékével elegyítjük, hozzákeverjük az olajat, féllágy zsírt és/vagy zsírsavszármazékot, majd a kapott elegyből különböző eljárásokkal mikrogömböket formálunk. Ezt végezhetjük például az elegy emulgeálásával vagy porlasztásával (vagy porlasztva szilárdításával) vagy úgy, hogy a hatóanyagot és az olvadt zsír, viasz vagy azok keveréke elegyét mechanikai úton feldolgozzuk, majd lehűtjük, például forgótárcsát használva. Úgy is eljárhatunk, hogy a hatóanyagot, a segédanyagot, a zsírt, a viaszot vagy keveréküket és az olaj elegyét lehűtjük, és a kapott szilárd anyagot dolgozzuk fel mechanikai úton, például őrléssel, darálással vagy hasonló eljárással.

A találmány szerint injektálható gyógyszerkészítményt könnyen előállíthatunk, oly módon, hogy a fehér-

jét, peptidet vagy polipeptidet, a segédanyagokat, a zsírt, viaszt vagy ezek keverékét és az olajat magas hőmérsékleten közvetlenül diszpergáljuk a vivőanyagban, majd a keveréket lehűtjük.

A legtöbb zsírból és zsírok és/vagy viaszok keverékéből előállított mikrogömb, ha a forró olvadékból porlasztással állítjuk elő, olyan részecskéket eredményez, amelyek kristályalakja DSC-analízis alapján főként az instabil alfa alak. A keményzsírok, például a trisztearin vagy a tripalmitin porlasztás után megőrzik alfa-kristályszerkezetüket több hónapon keresztül is, ha az általában előforduló szobahőmérsékleten tároljuk ezeket. Meglepő módon megállapítható, hogy a keményzsírok és folyékony zsírok keverékei, ha olvadt állapotban ezeket összekeverjük és porlasztással szilárdítjuk, és így mikrogömböket állítunk elő, akkor az alfa-kristályszerkezet gyorsan átalakul béta-kristályszerkezetté szobahőmérsékleten, ezáltal a fizikai stabilitás lényegesen megnő, és ily módon a keverék különösen alkalmas parenterális adagolású gyógyszerkészítmények előállítására. A keveréktől függően ez az átalakulás lényegében teljessé válik néhány óra és néhány nap közötti időtartam alatt. A kemény- és folyékony zsírok megfelelő összetételei a következők: 99–70 tömegrész főként telített 10–22 szénatomos, előnyösen 14–18 szénatomos zsírsav mono-, di- vagy triglicerin-észtere, és 1–30 tömegrész olaj, amely 2–10 szénatomos zsírsavak mono-, di- vagy trigliceril-észtere.

A mikrogömbök annak következtében, hogy a kemény- és folyékony zsírokkal, hatóanyaggal vagy a nélkül készített mikrogömbök kristályszerkezete gyorsan és spontán módon átalakul, a vivőanyagba szuszpendálva lényegesen lassúbb viszkozitásvövedést mutatnak szobahőmérsékleten vagy az átlagos hűtőszekrény-hőmérsékleten történő tároláskor. A 2–12 szénatomos zsírsavakkal alkotott folyékony glicerín-észterek különösen alkalmasak gyógyszerészeti segédanyagként, mivel ezek rendkívül biokompatibilisek és biodegradálhatók. Az előállított mikrogömbök, amelyeknél az instabil alfa-kristályszerkezetből a termodinamikailag sokkal stabilabb béta-kristályformává gyorsan átalakulnak, a következő tulajdonságokkal rendelkeznek: a porok jó önthetősége, kismértékű tapadás, csökkent tendencia a tárolás alatti agglomerációra, megnövekedett sűrűség és nagyobb szilárdság a fizikai feldolgozás során. Ezenkívül ezek a javított mikrogömbkészítmények ugyanolyan alkalmasak parenterális adagolásnál a fehérjék,

peptid és/vagy polipeptidek késleltetett hatóanyag-leadására, valamint a magasabb vérszint fenntartására, a súlynövekedés és/vagy a tejtermelés növekedése érdekében, mint amiről a 4,837,381 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás beszámol. Végül az ilyen mikrogömbök fizikai kezelhetőségének és stabilitásának a lényeges javítása lehetővé teszi, hogy egy kiváló tárolhatósági jellemzőkkel rendelkező, közvetlenül felhasználásra kész és kereskedelmi forgalomba hozható gyógyszerkészítményt állítsunk elő és csomagoljunk be.

Találmányunkat a továbbiakban példákkal is illusztráljuk, de nem kívánjuk azokra korlátozni.

15 1–7. példa

Semleges olaj vivőanyagban a mikrogömbök fizikai stabilitása

Ezekben a példákban mikrogömbkészítményeket mutatunk be, amelyeket oly módon stabilizálunk, hogy a készítményhez 2–15 tömeg% olajat, féllágy zsírt vagy ezek keverékét adunk. A fizikai stabilizációt úgy mérjük, hogy a mikrogömböket semleges trigliceridolaj vivőanyagban szuszpendáljuk, és a szuszpenziót tárolást utánzó körülmények között vizsgáljuk meleg környezetben 30 és 38 °C-on. Ezekben a példákban 3 g mikrogömböt szuszpendálunk 7,5 ml semleges trigliceridolajban és a szuszpenziót lassan forgatjuk (2–6 fordulat/perc) a meghatározott hőmérsékleten mindaddig, ameddig a szuszpenzió már nem folyik az edényben. A gélesedési idő körülbelül az az idő, ami eltelik addig, amíg a szuszpenzió már nem folyik. Az eredményeket az 1. táblázatban tüntetjük fel. A gélesedési időt intervallumban adjuk meg, amikor nem figyelhető meg pontos időpont. Az időt órában adjuk meg, kivéve ha másként jelöljük. A különböző adagú, típusú és különböző helyről származó keményzsírt nem egyforma mértékig stabilizáljuk. A gélesedési idő függ a keményzsír megválasztásától, valamint a mikrogömbkészítményhez hozzáadott olaj vagy féllágy zsír mennyiségétől és típusától. Mindazonáltal, amint az eredményekből kitűnik, az olaj vagy féllágy zsír hozzáadása lényegesen növeli a gélesedési időt a keményzsír adott típusánál vagy adagjánál. A mikrogömbök korát is megadjuk zárójelben, mivel ez lényegesen meghatározza a gélesedési időt, hiszen a kristályszerkezet átalakulása a kevésbé stabil alfa formából a stabilabb béta formává időfüggő.

1. táblázat

Zsír	Olaj vagy féllágy zsír	Gélesedési idő órában mikrogömbök kora (nap)	
		30 °C-on	38 °C-on
GTS ¹			
1. a)	nincs	1,5 (1)	
b)	nincs	6–24 (14)	10 perc (29)
c)	10% Miglyol ² 812 [®]	> 168 (1)	6 (15)
d)	5% GDS		6–24 (21)

1. táblázat (folytatás)

Zsír	Olaj vagy féllágy zsír	Gélesedési idő órában mikrogömbök kora (nap)	
		30 °C-on	38 °C-on
2. a)	nincs		7 perc (1)
b)	10% Miglyol 812®		1 (1)
c)	10% Miglyol 812®		2 (80)
3. a)	nincs	<1 (1)	
b)	nincs	1,3 (6)	7 perc (39)
c)	2% Miglyol 812®	2 (8)	
d)	5% Miglyol 812®	1,3 (8)	12 perc (22)
e)	10% Miglyol 812®	6–24 (8)	1 (29)
f)	15% Miglyol 812®	24 (1)	
g)	2% GDS	<2 (1)	
h)	5% GDS	3 (21)	7 perc (39)
i)	10% GDS	1,3 (1)	
j)	5% triacetin	8–24 (1)	1,25 (8)
k)	2% GDS és 10% Miglyol 812®	8–24 (1)	
4. a)	nincs	1,6 (1)	
b)	10% Miglyol 812®	24 (1)	
5. a)	nincs	6–24 (21)	
b)	10% Miglyol 812®	>168 (1)	
6. a)	nincs	5 perc (1)	
b)	10% Miglyol 812®	6–24 (1)	
GDS ³			
7. a)	nincs		1,1 (120)
b)	10% Miglyol 812®		2 (0)

¹ Az 1–5. példában az amerikai Huls cég különböző GTS (gliceril-trisztearát)-termékeit használtuk, amelyeknek kereskedelmi neve Dynasan 118. A 6. példában a Pfalz and Bauer cég anyagát használtuk.

² A 10% Miglyol 812® egy, a Huls cég által forgalmazott semleges trigliceridolaj.

³ A felhasznált anyag szállítója: Gattefosse, kereskedelmi neve Gelucire 64/02.

8. példa

Stabilizálatlan és stabilizált gliceril-trisztearát (GTS) mikrogömbkészítményeket állítunk elő a következő összetétellel:

Stabilizálatlan mikrogömbök:	28% szarvasmarha-szomatotropin	
	2% nátrium-benzoát	50
	0,14% Pluronic F68® ¹	
	70% gliceril-trisztearát	
Stabilizált mikrogömbök:	28% szarvasmarha-szomatotropin	55
	2% nátrium-benzoát	
	0,14% Pluronic F68®	60

63% gliceril-trisztearát
7% 10% Miglyol 812®

¹ A Pluronic F68® a BASF cég által forgalmazott etilén-oxid-propilén-oxid blokk-kopolimer.

Mindkét mikrogömbkészítményt azonos mennyiségű semleges olaj vivőanyagban szuszpendáljuk, és 25 °C-on vagy 4 °C-on tároljuk. Időnként mintát veszünk a készítményekből, amelyeket a tárolásból kivéve szobahőmérsékletre (20–25 °C) hagyjuk felmelegedni, majd megmérjük a viszkozitását (Brookfield-viszkoziméter T, C orsó, 100 fordulat/perc). Az eredményeket a 2. táblázatban tüntetjük fel. Látható, hogy tipikus tárolási körülmények mellett a stabilizált készítmény viszkozitása idővel lényegesen lassabban növekszik.

2. táblázat
Stabilizálatlan és stabilizált
GTS mikrogömbkészítmények viszkozitásának
összehasonlítása

Idő	Viszkozitás (CPS) 25 °C-on tárolva		25 °C-on mérve 4 °C-on tárolva	
	Stabilizá- latlan	Stabilizált	Stabilizá- latlan	Stabilizált
0.	66	66	66	66
1. nap	452	–	168	–
5. nap	2300	–	159	–
1. hét	7300	119	159	70
2. hét	–	195	159	71
4. hét	–	442	–	79
8. hét	–	1971	164	82
13. hét	–	2629	270	74
26. hét	–	2629	624	70
39. hét	–	5280	741	71

9. példa

A tejtermelés összehasonlítása és elemzése

- A 8. példa szerinti összetétellel stabilizálatlan és stabilizált mikrogömböket készítettünk, és ezeket tejelő teheneknél megvizsgáljuk a tejtermelés hatékonysága szempontjából. Injektáláshoz a mikrogömböket Miglyol 812®-ben szuszpendáljuk, amely egy semleges trigliceridolaj. A példában a kezeléseket felcseréljük kétszer 2 hetes injektálási periódus után. Ez azt jelenti, hogy a B csoport tehenei kapják a stabilizálatlan készítményt 4 hétig, oly módon, hogy az 1. és a 3. hét elején injekciót kapnak. Az 5., 7. és 9. hét elején ezek a tehenek stabilizált készítményből kapnak injekciót. A C csoport tehenei stabilizált készítményt kapnak az 1. és a 3. hét elején, majd stabilizálatlant az 5., 7. és 9. hét elején. A kísérlet eredményeit a 3. táblázatban tüntetjük fel. A két készítmény statisztikai összehasonlítását úgy végezzük, hogy meghatározzuk az átlagos különbséget az átlagos tejtermelésben minden egyes tehen esetén akkor, amikor a stabilizálatlan készítményt kapja, és az átlagos tejtermelést akkor, amikor a stabilizált készítményt kapja. Az 5. és 6. hét alatt tapasztalt tejtermelést nem vettük be a statisztikai elemzésbe, miután ebben az időszakban a két készítmény között kölcsönhatás lehetséges. Az átlagos különbség $-0,9 \pm 4,7\%$, amely statisztikailag nem szignifikáns, $P > 0,05$. Ebből az következik, hogy a tejtermelés a két készítmény esetén lényegében egyforma.

3. táblázat
Tejtermelés összehasonlítása és elemzése stabilizálatlan,
illetve stabilizált mikrogömbök késleltetett hatóanyag-leadású készítmények

Kéthetes pe- riódus →		Százalékos növekedés a tejtermelésben					Különbség*
		1.	2.	3.	4.	5.	
Tehén	1. készítmény		2. készítmény				
B csoport	1.	18,5	24,2	24,6	15,5	15,4	5,9
	2.	12,4	15,3	7,3	9,7	6,3	5,9
	3.	5,6	14,3	13,8	9,9	9,8	0,2
	4.	6,4	2,7	12,9	7,3	12,2	-5,2
	5.	0,9	4,5	12,8	7,9	8,1	-5,3
	6.	-4,5	8,3	8,1	8,0	1,9	-9,0
	7.	8,5	31,9	33,4	21,7	24,4	-2,9
	8.	4,7	10,9	4,5	7,9	9,9	-1,1
	9.	7,4	16,7	16,4	14,3	14,3	-2,3
	10.	18,5	19,2	23,5	21,3	22,3	-3,0
C csoport	1.	-6,9	5,3	12,3	3,5	6,2	5,7
	2.	4,0	6,5	-3,2	3,0	5,0	-1,2
	3.	3,1	4,6	8,2	7,1	8,7	4,0
	4.	4,3	10,5	15,4	9,9	12,3	3,7
	5.	2,9	15,4	19,5	16,9	11,7	5,2
	6.	4,9	4,8	9,8	-6,9	-13,0	-7,4
	7.	2,9	4,9	7,7	2,5	-3,1	-4,2

3. táblázat (folytatás)

		Százalékos növekedés a tejtermelésben					Különbség*
Kéthetes pe- riódus →	Tehén	1.	2.	3.	4.	5.	
		1. készítmény		2. készítmény			
	8.	7,7	11,7	12,7	9,1	11,9	1,6
	9.	9,9	14,1	18,1	6,0	6,3	-5,8
	10.	13,3	20,4	23,1	13,5	15,6	-2,6
					Átlagos különbség:		-0,9
					+/- standard eltérés:		-4,7

* A különbség az egyes tehenekre értendő, és az átlagos tejtermelésben észlelhető különbséget jelzi az 1. stabilizálatlan készítmény, illetve a 2. stabilizált készítmény adagolása során tapasztalt értékek között, vagyis a B csoportnál az első és második 2 hetes periódus, illetve a C csoportnál a 4. és 5. 2 hetes periódus alatt, illetve a B csoportnál a 4. és 5. 2 hetes periódus és a C csoportban az 1. és 2. 2 hetes periódus alatt. Miután a harmadik 2 hetes periódus kezdetén a kezelést felcseréltük, a kísérlet kiegyensúlyozott az adagolás mértéke szempontjából. A 3. 2 hetes periódus alatt kapott eredményeket statisztikai szempontból nem vettük figyelembe annak érdekében, hogy csökkentsük az egyik kezelésnek a másik kezelésbe átnyúló hatását. Az átlagos különbség a reakció különbségét mutatja a kétféle készítmény adagolása esetén.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Javított eljárás mikrogömbökből álló készítmény előállítására, amelynél egy zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét és egy biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet olvadt állapotban összekeverünk, a kapott keveréket porlasztjuk, *azzal jellemezve*, hogy a keverék porlasztása előtt 1–30 tömeg% olajat, féllágy zsírt, zsírsavszármazékot vagy ezek keverékét adunk az elegyhez.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy 30–95 tömeg% zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét és 2–70 tömeg% biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet keverünk össze.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy biológiailag aktív fehérjeként szarvasmarha-, sertés- vagy madár-növekedéshormont alkalmazunk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a keverékhez 5–20 tömeg% semleges triglicerinolajat adunk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a mikrogömbökből álló készítményt gyógyszerészetileg és gyógyászatilag alkalmas folyékony vivőanyagban szuszpendáljuk.

6. Eljárás mikrogömbökből álló készítmény előállítására, *azzal jellemezve*, hogy 30–95 tömeg% zsírt vagy viaszt vagy ezek keverékét, 2–70 tömeg% biológiailag aktív fehérjét, peptidet vagy polipeptidet és 1–30 tömeg% olajat összekeverünk, és a kapott keveréket porlasztjuk.

7. A 6. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy 5–20 tömeg% semleges triglicerinolajat és biológiailag aktív fehérjeként szarvasmarha-, sertés- vagy madár-növekedéshormont alkalmazunk.