

**KÜLÖNLEGES HATÓANYAG HORDOZÓ TÜDŐBEN VALÓ
ALKALMAZÁSHOZ**

KIVONAT

A találmány különleges hatóanyag hordozóra, ennek előállítására, és ebből készült gyógyászati kompozícióra vonatkozik, amely tüdőben alkalmazható. A szárazon formázható, biológiailag összeférhető, különleges hatóanyag hordozó részben vagy egészben lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidokból, előnyösen poli(1,4- α -D-glukán)-ból van előállítva homogén, egységes méretben előnyösen valamely biológiai transzformációs eljárással, és ez a hordozó csomó vagy agglomerátum kialakítására képes. A találmány különösen előnyösen a száraz por inhaláló berendezésekben alkalmazható.

KÜLÖNLEGES HATÓANYAG HORDOZÓ TÜDŐBEN VALÓ ALKALMAZÁSHOZ

A találmány szárazon formázható különleges hatóanyag hordozóval foglalkozik, amely lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidokból van előállítva, foglalkozik továbbá ennek előállításával, valamint ennek alkalmazásával.

A modern gyógyszerészeti technológiában olyan formázások kívánatosak, amelyeknek kiszerezési formája kíméletes módon alkalmazható és célzott befolyást gyakorol valamely gyógyszer biológiai eloszlására, biológiai hozzáférhetőségére vagy felszívódására.

Mindenekelőtt különleges rendszerek, úgynevezett mikrorészecskék, amelyek általában 100 μm -nél kisebb tartományban levő részecskénagysággal rendelkeznek, bizonyulnak jó minőségű alkalmazási formának, illetve gyógyszer szolgáltatató rendszernek ("Drug Delivery System") és szolgálnak hatóanyagok, elsősorban gyógyszer hatóanyagok megfelelő hozzáférhetőségére biológiai organizmusokban. Egy 1-100 μm mérettartományban levő mikrorészecske mindenekelőtt parenterális felhasználáshoz, például szubkután injekcióhoz válik be, ahol a hatóanyagok hosszú idejű leadása akár egy hetet is meghaladhat. Intenzíven vizsgáltak lényegesen kisebb, a 0,5 μm -es tartományban levő mikrorészecskéket, hogy a vér-agy gátat legyőzzék.

A gyógyászati hatóanyagoknak olyan alkalmazási formára van

szükségük, amelyek a fiziológiai helyzetnek megfelelően viselkednek (például gyógyászati fehérjék és mások, amelyeket például orálisan alkalmaznak, a gyomorban denaturálódhatnak, vagy enzimes emésztésen mehetnek keresztül és ezért többnyire csak injekcióként vagy más behatolási formában alkalmazhatók).

A nem behatoló beadásnak különösen egy speciális formája, a tüdőn belüli (pulmonális) alkalmazási forma nyújt inhalálási terápia keretében lehetőséget a gyógyászati anyagok tüdőn át történő felvételéhez a terápiás, diagnosztikus vagy megelőző tulajdonságok figyelembevételével [Patton: Chemtech 27 (12) 34-38 (1997)] és ilyen módon a szisztémás és helyi kezelés is lehetővé válik, ez pedig nagyobb beteg-tűréshez vezethet. Ehhez méretben és minőségben különleges rendszert szükséges rendelkezésre bocsátani, amely lehetővé teszi, hogy ez a hörgőkben és tüdő légútyagocskákban előre haladjon, ahol az érzékeny membránok következtében hatékony hatóanyag-felvétel megy végbe a szervezet vérpályáiba.

Eddig mindenekelőtt azok a már piacon kapható pulmonális alkalmazási formák ismereteseek hajtógázzal hajtott, dózisként adagolható aeroszolok formájában, amelyeket csaknem kizárólagosan az asztmás betegségek terápiájához alkalmaznak. Hátrányos azonban az ózonkárosító hajtógázok alkalmazása. Jelenleg nagy erőfeszítések történnek, hogy a gyógyszerek alkalmazását a tüdőn át más hatóanyagokra és más indikációs területekre is átvigyük. Az érdeklődés középpontjában jelenleg a por inhaláló rendszerek, az úgynevezett száraz por inhalálók ("Dry Powder Inhaler") állnak, amelyeknek alapja egy megfelelő gyógyszerészeti száraz formázás. A WO 96/32149 számú PCT közzétételi iratban leírnak hordozóanyagot humán szérum albumin hatóanyaghoz, beleértve adalékanyagok alkalmazását is. Langer és

munkatársai [Science 276, 1868 (1997)] leírják politejsavból készült mikrorészecskék alkalmazását, amelyek 10-20 % inzulinnal vannak terhelve, és hasonló eredményeket érnek el, mint a megfelelő szubkután injekcióval [Abstract; Controlled Release Society Conference, Svédország (1997)]. A részecskék nagysága a 8 és 20 μm közti tartományban van.

A WO 97/35562 számú PCT közzétételi irat hatóanyagot hordozó mikrorészecskéket ír le pulmonális alkalmazásra, amelyek vizes oldatból vannak előállítva, és hátrányuk az, hogy csak vízoldható hatóanyagokat tudnak felvenni.

A WO 97/44013 számú PCT közzétételi irat porózus részecskéket ismertet politejsav-poliglikolsav kopolimerből, amely részecskék átmérője 5-30 μm -t mutat.

A WO 96/32116 számú PCT közzétételi iratban 0,5-50 μm nagyságrendben levő mikrorészecskéket írnak le, amelyek nukleinsavból vagy vírus vektorokból állnak, és egy szuszpenzióból nyerhetők hidrofil oligomer poliszacharidok segítségével szárítás, elsősorban porlasztva szárítás segítségével.

A WO 96/32152 számú PCT közzétételi irat olyan részecskéket ír le, amelyek α -1-antitripszin hatóanyagból állnak 1-50 μm nagyságban, ahol hígító anyagok alkalmazása is megengedhető. A WO 97/36574 számú PCT közzétételi irat üreges részecskéket ír le sima felülettel, amelyek részecskénagysága 0,5-7,0 μm -t tesz ki.

A WO 97/36574, WO 96/36314, WO 96/00127 és WO 96/32096 számú PCT közzétételi iratokban további különleges rendszereket írnak le, amelyek részben szintetikus polimerekből állnak vagy hatóanyagokból a legkülönbözőbb méreteken.

A technika jelenlegi állása szerint gondot jelent, hogy a részecskék depot hatása viszonylag behatárolt. Itt továbbá olyan vízoldható, többnyire kémiai szintézisből

származó termékekről van szó, amelyeknek biológiai összeférhetősége korlátozott (oldószer maradványok, idegen anyagok, stb). Ezek továbbá tartalmazhatnak méretben, felületben és összetételben nem egységes, inhomogén részecskéket, amelyek különösen a tüdőn belüli alkalmazásnál korlátozzák a biológiai hozzáférhetőséget; a korlátozások között megemlíthjük a veszteséget az eredményességben lerakódások miatt, vagy a diszpergálhatóság csökkenését. További problémák adódnak a technika állása szerint a hordozók terhelhetőségével kapcsolatban.

A találmány feladata ebből következőleg különböző termékek szárazon formázható hatóanyag hordozóinak kifejlesztése a piacon már található berendezésekhez, amely hordozók ezeket a hátrányokat kiküszöbölik. Különösen szükséges lehetőséget biztosítani egy olyan részecske-technika létrehozására, amelynek segítségével a tüdőben depot hatás érhető el. A találmány feladata az is, hogy diszpergálható hatóanyag hordozót biztosítson. A találmány feladata továbbá rendelkezésre bocsátani a legegyszerűbb és legelőnyösebb eljárást annak a száraz kiszerezésnek az előállításához, amely előnyösen alkalmazható a tüdő kezelésének keretében. Feladatot jelent továbbá a hatóanyag hordozók optimalizálása méretben, felületben és alakban az inhalálásban való alkalmazáshoz.

A feladatot úgy oldjuk meg, hogy különleges hatóanyag hordozókat készítünk tüdőn belüli alkalmazáshoz, amelyek legalább egy vízben oldhatatlan lineáris poliszacharidot tartalmaznak, és amelyek közepes mérete 10 μm -nél kisebb.

A találmány szerinti intézkedések révén az alábbi, további előnyöket érjük el:

- a hordozó anyagok jobb megterhelhetősége hatóanyagokkal a jó szuszpendálhatóság segítségével különböző közegekben (például diszperziós eljárások, porlasztva szárítás);

- az alkalmazott hordozó anyagok közömbössége és jelentős biológiai összeférhetősége természetben előforduló szerkezetek segítségével és természetazonos termékek alkalmazásának segítségével;
- a felületaktív vegyületek hozzáadásának elkerülése a hatóanyag formázás kialakításánál;
- a repülési tulajdonságokra pozitívan ható aerodinamikai átmérő. Ezt a sima golyókkal összehasonlítva porózus felületi állapotok alapján érjük el, és egyidejűleg a felületi érdességgel társuló tendencia révén a csomó és/vagy agglomerátum képzést támogatjuk.

A találmány értelmében a különleges hatóanyag hordozót 10 μm -nél kisebb, előnyösen 1-10 μm közti, különösen előnyösen 2-6 μm közti és egészen különösen előnyösen 1-3 μm közti közepes méretű részecskék jellemzik, amelyek mint esszenciális alkotórészt legalább egy lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidot tartalmaznak.

A jelen találmány értelmében a lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidok olyan poliszacharidok, előnyösen poliglukánok, különösen poli(1,4- α -D-glukán)-ok, amelyek monoszacharidokból, diszacharidokból, és ezek további oligomerjeiből vagy származékaiból állnak.

Ezek mindig azonos módon vannak egymással összekapcsolva. Minden így definiált alapegységnek pontosan két kapcsolása van, mindig egy-egy másik monomerrel. Ezek közül kivételt képeznek azok az alapegységek, amelyet a poliszacharidok elejét és végét képezik. Ezeknek az alapegységeknek csak egy kapcsolásuk van egy másik monomerrel. Egy monomer három vagy több kapcsolásánál (kovalens kötésekkel) egy további csoporthoz, előnyösen egy további szacharid egységhez, elágazásról beszélünk. Minden szacharid építőköhöz a polimer gerincben legalább három glikozid kötés jár.

A találmány szerint elágazások nem vagy csak jelentéktelen mértékben fordulnak elő, amely nagyon kis elágazási részesedés a hagyományos analitikai eljárásokkal általában nem nagyon mutatható ki. Ez a helyzet például abban az esetben, amikor minden létező olyan hidroxicsoport, amely nem a lineáris poliszacharid felépítéséhez szükséges, összességéből száz hidroxicsoportra maximum öt olyan hidroxicsoport jut, amely más szacharid építőelemekkel való kötéssel van elfoglalva.

Az elágazási fok akkor maximális (100 %), amikor minden szacharid egységen minden szabad hidroxicsoport (vagy más előforduló funkcionális csoport) további glükózid (vagy más) kötést mutat további szacharidokhoz. Az elágazási fok akkor minimális (0 %), amikor a szacharidokon a polimerek linearitását szolgáló hidroxicsoportokon kívül további hidroxicsoportok kémiai kötésekkel nincsenek megváltoztatva.

Az előnyös, vízben oldhatatlan lineáris poliszacharidokra példák lehetnek a lineáris poli-D-glukánok, amelyekben a kapcsolások jellegének nincs jelentősége és a találmány szerinti linearitás keretén belül vannak. Példák lehetnek a poli(1,4- α -D-glukán) és poli(1,3- β -D-glukán), ahol a poli(1,4- α -D-glukán) különösen előnyös.

Amennyiben az alapegység három vagy több kapcsolással bír, elágazásról beszélünk. A száz alapegységre eső olyan hidroxicsoportok, amelyek nem a lineáris polimer gerinc felépítésében vesznek részt és elágazást képeznek, számából adódik az úgynevezett elágazási fok.

A találmány szerinti lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharid 8 %-nál kisebb elágazási fokkal bír, vagyis 8-nál kevesebb elágazás található 100 alapegységre. Az elágazási fok előnyösen 4 %-nál, és különösen előnyösen 1,5 %-nál kisebb.

A vízben oldhatatlan lineáris poliszacharid egy poliglukán, például poli(1,4- α -D-glukán) a 6. helyen 4 %-nál kisebb, előnyösen maximum 2 % és különösen előnyösen maximum 0,5 % elágazási fokkal bír, és az elágazási fok a további, nem a lineáris kapcsolásban résztvevő helyen, például az előnyös poli(1,4- α -D-glukán)-ok 2. illetve 3. helyén, különösen előnyösen maximum 1 % elágazási fokkal bírnak.

Különösen előnyösek azok a poliszacharidok, különösen a poli- α -D-glukánok, amelyek egyáltalán nem rendelkeznek elágazásokkal, illetve az elágazási fokuk olyan minimális, hogy ez a szokásos eljárásokkal már nem mutatható ki.

A találmány szerint a α (alfa), β (béta) vagy D előtagok kizárólag azokra a kapcsolásokra vonatkozhatnak, amelyek a polimer gerincet kialakítják, és nem az elágazásokra.

A "vízben oldhatatlanság" kifejezés a jelen találmány értelmében azt jelenti, hogy egy vegyületnek nincs felismerhető oldhatósága normál körülmények között (szobahőmérséklet 25°C hőmérsékleten, 101325 Pa levegőnyomás, és ezektől az értékektől maximum 20 %-kal lehet eltérni).

A találmány szerint alkalmazott poliszacharidok, különösen poliglukánok, mint a poli(1,4- α -D-glukán), esetében ez azt jelenti, hogy a bevitt mennyiség legalább 98 %-a, előnyösen 99,5 %-a vízben oldhatatlan. Az oldhatatlanság fogalmát az alábbiak figyelembevételével magyarázhatjuk meg. Melegítsünk a vizsgálandó lineáris poliszacharidból 1 g-ot ionmentesített vízben 130 °C hőmérsékleten 10⁵ Pa nyomáson, így a kialakuló oldat csak rövid ideig, csak néhány percig marad stabil. Lehűtve normális körülmények közé az anyag ismét kicsapódik. További hűtés és centrifugával végzett elkülönítés után, bekalkulálva a kísérleti veszteségeket, ezen a módon a bevezetett mennyiség legalább 66 %-át visszanyerhetjük.

Ennek a találmánynak a keretében előnyösen olyan lineáris, vízben oldhatatlan

poliszacharidokat alkalmazunk, amelyek a biotechnológiai vagy géntechnológiai eljárások fogalmának megfelelő eljárásokkal nyerhetők. Egy különösen előnyös kiviteli formája az itt leírt eljárásnak az előállítás valamely biotechnológiai eljárással, különösen valamely biokatalitikus eljárással, vagy valamely fermentációs eljárással.

A biológiai katalízissel (biokatalízissel), más néven biológiai transzformációval (biotranszformációval) előállított lineáris poliszacharid ennek a találmánynak a keretében azt jelenti, hogy ezt a lineáris poliszacharidot monomer alap-építőkövek, vagy például oligomer szacharidok, mono- és diszacharidok katalitikus reakciójával lehet előállítani, ahol az előállítási reakcióban egy úgynevezett biokatalizátort, rendszerint valamely enzimet alkalmazunk megfelelő körülmények között. Előnyösek a poli(1,4- α -D-glukán)-ok, különösen poliszacharid szintetázok és/vagy keményítő szintetázok és/vagy glikozil-transzferázok és/vagy 1,4- α -D-glukán transzferázok és/vagy glikogén szintetázok és/vagy amiloszacharázok és/vagy foszforilázok segítségével előállítva.

A fermentációs úton előállított lineáris poliszacharidok a találmány gyakorlata szerint olyan lineáris poliszacharidok, amelyek fermentációs műveletekkel jöttek létre természetben előforduló organizmusok, mint gombák, algák vagy mikroorganizmusok alkalmazásával vagy természetben elő nem forduló organizmusok alkalmazásával, amely utóbbi organizmusok természetes organizmusok, mint gombák, algák vagy mikroorganizmusok módosításával nyerhetők a géntechnológia fogalmába tartozó eljárások segítségével.

Ezen kívül lineáris poliszacharidokat lehet nyerni a jelen találmány szerinti retard tabletták előállításához elágazásokat tartalmazó nem lineáris poliszacharidokból úgy, hogy ezeket valamely enzimmel kezeljük, így hasítással (például valamely enzimmel, mind amilázzal, izoamilázzal, glukonohidrolázzal, pullulanázzal, stb)

és az elágazások leválasztásával ezekből a lineáris polimereket kinyerhetjük.

Nincs kizárva a lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidok kinyerése és tisztítása növényekből sem biotechnológiai vagy géntechnológiai eljárásokkal, és ezek az eljárások határozottan alkalmasnak számítanak.

A különleges hatóanyag hordozókat elsősorban olyan mikrorészecske-technikával állítjuk elő, amely a DPA, AZ: 197 37 481.6 számú szabadalmi bejelentés tárgya.

A száraz formázás mellett elképzelhető inhalálás a hatóanyag hordozó diszperzióira vagy szuszpenzióira alapozva is, amely itt határozottan használhatónak számít. Különösen alkalmas és előnyös kiviteli formának azonban mégis az inhalálás látszik száraz formázásra alapozva. Itt olyan diszpergálható száraz porról van szó, amely porinhaláló berendezés ("Dry Powder Inhaler") segítségével tüdőn belül (pulmonálisan) alkalmazható. A találmány szerint lényeges, hogy a száraz formázásban a mikrorészecskéket úgy készítjük el, ahogyan ez a DPA, AZ: 197 37 481.6 számú szabadalmi bejelentésben le van írva. Itt olyan monorészecskékről van szó (1. és 2. ábra), amelyeknek különösen alkalmas aerodinamikai átmérőjük van, és amelyek különösen előnyösen hatnak az inhalálásra (például csökkentett mennyiségű üledék a falakon). Különösen előnyös aerodinamikai átmérőt mutatnak a találmány céljaira a monorészecskékből képzett csomók és/vagy aggregátumok és/vagy agglomerátumok. Ezeknek a részecskének a keverékével a tüdő anatómiai adottságainak figyelembevételével javított hatóanyag elosztást és tüdőbe behatolást (avagy légzésmélységet) érünk el (lásd a példákat az Andersen-impaktorral kapcsolatban). Az úgynevezett aerodinamikai átmérő fogalmához a találmány igénybe veszi azt a definíciót, amely a WO 97/36574 számú PCT közzétételi iratban található, amely szerint a geometriai átmérőt, amely egy golyó formájú képződmény (például gömbi részecske) térbeli

kiterjedését határozza meg a távolság segítségével felületről-felületre a golyószerű képződmény középpontjától számítva, megszorozzuk a részecske sűrűség gyökével.

A csomó és/vagy aggregátum és/vagy agglomerátum fogalmában mikrorészecskék olyan halmazát értjük, amely nem kovalens erők kialakulásával jön létre. Különösen előnyösek itt például a kúpszerű és/vagy málnaszerű és/vagy gömbszerű szerkezetek, amilyenek például a 3. és 4. ábrában vannak bemutatva. A nem kovalens erők lehetnek például bipoláris kölcsönhatások, van der Waals erők, hidrogénhid-kötések vagy térbeli kölcsönhatások, ez utóbbiak meghatározásánál a kulcs-zár elv jelölhető meg.

A találmány szerint alkalmazott lineáris poliszacharidok M_w molekulatömege egy széles tartományon belül, 10^3 g/mol és 10^7 g/mol között változhat, de előnyösen a 10^4 g/mol és 10^5 g/mol, még előnyösebben $5 \cdot 10^3$ g/mol és $5 \cdot 10^4$ g/mol közti tartományban levő poliszacharidokat alkalmazunk. Az előnyösen alkalmazott poli(1,4- α -D-glukán) lineáris poliszacharidokat is az említett megfelelő molekulatömeg-tartományból alkalmazzuk.

A "biológiaiailag összeférhető" (biokompatibilis) kifejezés a találmány értelmében azt jelenti, hogy az alkalmazott poliszacharid teljes biológiai lebomláson mehet keresztül és a legcsekélyebb mértékben sem halmozódik fel az organizmusban.

A biológiai lebontásnál valamennyi olyan in vivo történő folyamatról beszélünk, amely polimerek lebontásához vagy széttöredezéséhez vezet. Különösen ebbe a tartományba tartoznak a hidrolitikus vagy enzimatisz folyamatok. A poliszacharidok valamint lebomlási termékeik (metabolitjaik) biológiai hozzáférhetőségéhez nem utolsósorban nagy jelentőségű, hogy a bevezetett poliszacharidok természetazonos jellegűek. Ezért terápiás, diagnosztikus vagy megelőző alkalmazáshoz a szóba jövő poliszacharidok különösen alkalmasak.

A továbbiakban a "gyógyászatiilag elfogadható" kifejezés értelmét adjuk meg a jelen találmány szerint; ez azt jelenti, hogy egy hatóanyag hordozóját, a segédanyagot vagy az úgynevezett töltőanyagot egy élőlény a nélkül veheti fel, hogy a szervezet számára szignifikáns mellékhatások jelentkeznének. A tüdőbeli átadás különleges esetében ez azt jelenti, hogy a segédanyagot a tüdő képes felvenni és ott ez nem testidegen mechanizmussal lebomlik, feloldódik, tovább szállítódik vagy olyan lerakódásba jut, amelynek felgyülemzése nem vezet káros hatásokhoz az élőlényekben.

A "szabályozott hatóanyag kibocsátás" kifejezésen azt értjük, hogy a hatóanyagnak egy megfelelő statisztikus eltérést figyelembe véve a befogadástól számított megfelelő idő és/vagy időtartam után valamely biológiai szervezetben előnyös dózisa szabadul fel.

Ez a meghatározás magában foglal szélsőséges eseteket is. Az egyik az összes, a kiszerezésben rendelkezésre álló hatóanyag spontán felszabadulása egy nulla értéknek tekinthető időtartamon belül. A másik esetben a terápiás hatások eléréséhez minimálisan szükséges anyag/dózis hosszú, csaknem végtelen időtartam alatt szabadul fel, legalább olyan időtartam alatt, amely szükséges ahhoz, hogy minden, a kiszerezésben rendelkezésre álló hatóanyag felszabaduljon.

Az itt szóban forgó száraz formázásnál (kiszerezésnél) a "depot formázás" vagy "formázás késleltetett felszabadulással" egymás szinonimáit képezik. A "száraz formázás" és/vagy "por" kifejezések a találmány értelmezésében olyan kompozíciót jelentenek, amely a mindenkori gyógyászati összetétel tiszta, szilárd részecskéiből áll. Ezek a részecskék összességükben szabadon szállnak és diszpergálhatók.

Az inhalálás alkalmazásának különleges eseteinél a száraz formázás és/vagy por kifejezés továbbá azt jelenti, hogy egy anyag a száraz porhoz való inhaláló berendezésben alkalmazható úgy, hogy a tüdőben a hatás felismerhető. Ezzel

összefüggésben alkalmazhatók a "gyógyszerek tüdőbeli szállításához alkalmas" vagy "belélegezhető" (angolul "respirable") kifejezések is.

Ezzel összefüggésben a jelen találmány keretében a "száraz" kifejezésen kevesebb, mint 25 % víztartalmat értünk, ahol a 15 %-nál kevesebb víztartalom az előnyös. Különösen előnyös a víztartalom 5 % és 10 % között.

A "gyógyászati hatás" a találmány értelmében azt jelenti, hogy valamely hatóanyag gyógyászatilag hatékony mennyisége a kitűzött célhelyre eljut, ott hatását kifejti és fiziológiai reakciót okoz. A csillapító és/vagy gyógyító hatást értékeljük.

A "diszpergálhatóság" kifejezés a találmány értelmében azt jelenti, hogy a kapott száraz formázás (kiszereelés) külső mechanikus eszközökkel elporlasztható vagy felkavarható, így ez az állapot egy meghatározott rövid időtartamon át olyan stabil lesz (szilárd a gázban vagy szilárd a folyadékban), hogy egy további folyamatot indíthat be, amely nagyobb kihasználáshoz vezet. A találmány keretében a tüdőn belüli felhasználás, tehát a hatóanyag felvétel a tüdőn keresztül, szolgál kiemelkedő példaként, de más hatóanyag szállítási jelenségek nincsenek kizárva.

A tüdőn belüli felhasználáshoz az általánosan hozzáférhető, piacon található inhaláló berendezéseket alkalmazzuk, különösen az úgynevezett száraz por inhaláló (Dry Powder Inhalator) berendezéseket, valamint szabadalmakban és közzétételi iratokban leírt berendezéseket (előállítók: 3M Manufacturing Minnesota Mining, Inc., Inhale Therapeutic Systems, Inc., Dura Pharmaceuticals; Aerogen; és Aradigm Corporation; hivatkozott PCT közzétételi iratok: WO 94/16756; WO 96/30068; WO 96/13292; WO 96/33759; WO 96/13290; WO 96/32978; WO 94/08552; WO 96/09085; WO 95/28192).

A hatóanyagokkal, amelyek megfelelő gyógyászati összetételekben leírt hatóanyag hordozók segítségével tüdőn belül alkalmazhatók, kapcsolatban

semmiféle fenntartás nem létezik.

A gyógyászati összetétel különösen olyan kórképekben hatásos, amelyeknek genetikai okaik vannak vagy amelyeket az életvitellel kapcsolatban kaptak meg.

A hatóanyagok felszabadulása vagy szisztémásan, vagy helyileg történhet. Ez megcélozhat enyhítő vagy gyógyító hatást.

A jelen találmányban felhasznált hatóanyagok lehetnek vízoldhatók, de lehetnek vízben oldhatatlanok is. A gyógyászati területre bevezetett aktív anyagok vagy hatóanyagok lehetnek gyógyászati vagy diagnosztikai anyagok, de lehetnek megelőző hatású anyagok is.

A bevezetett hatóanyagok a legkülönbözőbb indikációkra vonatkozhatnak. Ezek közül megnevezzük az alábbiakat: asztma, cisztás fibrózis, általános tüdőbetegségek, cukorbetegség (hipoglikémiás reakció), rák, mukoviszcidózis, veseelégtelenség, hemofília, ovuláció stimulálás, neutropénia, Gaucher betegség, vesetúltengés, szörsejt-leukémia, karcinóma, szklerózis multiplex, krónikus granulomatózis, szívizom infarktus, trombózisok, hipofízis aprósejtes burjánzás, heparinnal társult trombocitopénia (HAT) II. típusa, vakcinálás, hepatitisz B megelőzés, növekedés stimulálás sejtelemekekkel, bronchitisz, krónikus légzési betegségek, tüdőbetegségek és kebefertőzések.

A különleges hatóanyag hordozókhoz nem tartozik semmiféle korlátozás a hatóanyag stabilitását illetően. Az alkalmazott természetes poliszacharidoknál kémiaiilag inert anyagokról van szó úgy, hogy érzékeny hatóanyagok, mint peptidek és fehérjék is alkalmazhatók. Itt elsősorban azok a peptidek és fehérjék érdekeltek, amelyek a húsz természetes aminosavból vannak felépítve. A természetes aminosavak részleges pótlása természetben elő nem forduló aminosavakkal azonban nem gyakorol hatást az itt leírt találmány alkalmazhatóságára (például Cetorelix). Oligonukleotidok vagy vírusvektorok alkalmazása is lehetséges.

A fehérjéknél és a peptideknél lehet a természetből származó vegyületeket bevezetni vagy olyanokat is, amelyek elsősorban biológiai és/vagy géntechnikai eljárási lépésekkel lettek előállítva, és általában a rekombináns anyagok fogalma alá vannak besorolva. Itt kiemeljük elsősorban azokat a gyógyszereket és oltóanyagokat, mint a humán DN-áz (Dornáz- α), eritropoietin- α (Epoetin- α), eritropoietin- β (Epoetin- β), VII. faktor (Eptacog- α), VIII. faktor, follitropin- α , follitropin- β , glikozilezett G-CSF (Lenograsztim), G-CSF (Filgrastim), GM-CSF (Molgramostim), glukagon, glukocerebrozidáz (Alglucerase), IL-2 (Aldesleukin), interferon- α -2a, interferon- α -2b, interferon- β -1b, interferon- γ -1b, inzulin (humán inzulin, Lispro), t-PA (Alteplase), r-PA (Reteplase), humán növekedési hormon (HGH, Somatropin), hirudin, hepatitisz B-antigén, hepatitisz A/B kombinált oltóanyag, MPlF-1 (mieloid progenitor inhibitor faktor-1), KGF-2 (keratinocita-növekedési faktor).

Összegezve a fentieket, ezeknek a hatóanyagoknak az alábbi csoportjaiból és osztályaiból előnyös az itt bemutatott technológiával elsősorban a tüdőbeli alkalmazáshoz eljutni:

kalcitonin, felbamát, AZT, DDI, GCSF, lamotrigin, gonadotropin kibocsátó faktor (hormon) (GNRH, GHRH és GHRH analóg hormonok), luteinizáló hormon kibocsátó hormon (LHRH) és LHRH analógok (mind antagonisták, mind agonisták, például leuprolid acetát, leuprolid, lupron vagy lupron depot, buzerelin, ramorelix, cetorelix), TRH (tireotropin kibocsátó hormon), adenosin deamináz, argatroban, α -1-antitripszin, albuterol, amilorid, terbutalin, izoproterenol, metaprotaranol, pirbuterol, flutikazon propionát, beklometazon dipropionát, kromoglicinsav, dinátrium-kromoglicinát, nedokromil, szultanol, beklometazon, bambuterol, mometazon, triacetamid, kromolin, szalmeterol, szalmeterol xintót, formoterol, triamcinolon acetamid, fluniszolid, flutikazon, szalbutamol, budeszonid, fenoterol, ipratropium bromid, tahikinin,

tradikinin, furoszemid, dinátrium-kromoglikát, nafarelin, kromolin nátrium, albuterol-szulfát, metaproterenol-szulfát, szomatosztatin, oxitocin, dezmpresszin, ACTH analógok, szekretin glukagon, kodein, morfin, diltiazem, kromoglikát, ketotifen, cefalosporin, pentamidin, flutikazon, tipredan, noszkapin, izoetarin, amilorid, ipratropium, oxitropium, kortizon, prednizolon, aminofilin, teofilin, metapirilén.

Analgetikumok, anginára ható készítmények, antiallergiás szerek, antihisztamin, gyulladásgátló szerek, hörgőtágítók, hörgőgörcsoldók, diuretikumok, antikolinerg szerek, anti-adhéziós molekulák, citokin módosítók, biológiailag aktív endonukleázok, rekombináns humán DN-ázok, neurotranszmitterek, leukotrin inhibitorok, érre ható bél peptidek, endotelin antagonisták, analeptikumok, analgetikumok, helyi érzéstelenítők, narkotikumok, epilepszia elleni szerek, görcsoldók, Parkinson-ellenes szerek, hányás elleni szerek, a hormonrendszert szabályozó vagy stimuláló vegyületek, a szív- és vérkeringést szabályozó vagy stimuláló vegyületek, a légzési traktus rendszerét szabályozó vagy stimuláló vegyületek, vitaminok, nyomelemek, antioxidánsok, citosztatikumok, antimetabolitok, fertőzés elleni szerek, immunmodulátorok, immunszuppresszív anyagok, antibiotikumok, fehérjék, peptidek, hormonok, növekedési hormonok, növekedési faktorok, xantin, vakcinák, szteroidok, b₂-mimetikumok.

Ezeket a vegyületeket lehet alkalmazni szabad sav vagy szabad bázis formájában, de lehet alkalmazni ezeknek a vegyületeknek vagy anyagcsoportoknak gyógyászati lag aktív és elfogadható sóit, továbbá ezek hidrolizátumait, fragmentumait vagy metabolitjait is.

A formázáshoz szokásos segéd- és kiegészítő anyagokat lehet alkalmazni.

Az ez után következő kiviteli példák csak a találmány közelebbi magyarázatára szolgálnak, és ezek nem kívánják a találmányt a kiviteli példákban leírt termékekre és kiviteli formákra korlátozni.

KIVITELI PÉLDÁK

Az alábbi kiviteli példák különösen olyan mikrorészecskék előállítására vonatkoznak, amelyek a DPA, AZ: 197 37 481.6 számú szabadalmi bejelentésben le vannak írva, amely bejelentésre határozottan hivatkozunk. Leírnak továbbá egy különösen előnyös eljárást poli(1,4- α -D-glukán) előállítására a WO 95/31553 számú PCT közzétételi iratban.

Ezen túl a kiviteli példák a száraz formázás segítségével por inhalálás keretében történő tüdőbeli alkalmazás megvilágításához vezetnek.

1. példa

Poli(1,4- α -D-glukán) in vitro kialakítása biokatalitikus eljárásban amiloszacharáz enzim segítségével.

Egy gőz-sterilizéssel sterilizált 15 literes edénybe 10 liter 20 %-os szacharóz oldatot adunk. Fermentáció segítségével kapott amiloszacharázt tartalmazó enzim-extraktumot egy adagban hozzáadunk a szacharóz oldathoz. Az enzimaktivitás 16 egységet tesz ki (1 egység megfelel 1 μ mól szacharóz/perc/mg enzim átalakulásnak). A berendezés egy szintén sterilizett KPG-keverővel van ellátva. Az edényt lezárjuk és 40°C hőmérsékleten tartjuk kevertetés mellett. Bizonyos idő múlva fehér csapadék képződik. A reakciót 180 óra időtartam után befejezzük. A csapadékot kiszűrjük és a kis molekulatömegű cukor elválasztása érdekében többször mossuk. A szűrőn fennmaradt csapadékot 30 és 40°C közti hőmérsékleten szárítószelekrényben membránszivattyú (a Vacuubrand GmbH & Co. cég CVC 2 terméke) segítségével létesített vákuum alatt szárítjuk. A kapott tömeg 685 g (kitermelés 69 %).

2. példa

Amiloszacharázzal az 1. példa szerint szintetizált poli(1,4- α -D-glukán) jellemzése géppermeációs kromatográfia segítségével.

Az 1. példából kapott 2 mg poli(1,4- α -D-glukán)-t szobahőmérsékleten dimetil-szulfoxidban (DMSO; analitikai minőség a Riedel-de-Haen cégtől) feloldunk és a kapott oldatot szűrjük (2 mm-es szűrő). Az oldat egy részét gélpermeációs kromatográfiás oszlopra injektáljuk. Eluáló szerként DMSO-t alkalmazunk. A jelerősséget RI-detektor segítségével mérjük és pullulán standarddal szemben (Polymer Standard System cég) értékeljük. Az átfolyási sebesség 1,0 ml/perc.

A mérési eredményeket az alábbiak szerint adjuk meg: a molekulatömegek átlagértéke (M_n) 3200 g/mól, és a molekulatömegek súlyozott átlagértéke (M_w) 9300 g/mól. Ez 2,8 szórási értéknek felel meg.

3. példa

Mikrorészecskék előállítása poli(1,4- α -D-glukán)-ból.

400 g poli(1,4- α -D-glukán)-t feloldunk 2 liter dimetil-szulfoxidban (DMSO, analitikai minőség, a von Riedel-de-Haen cég terméke) 40°C hőmérséklet alatt. Ezután 1 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük. Az oldatot 20 liter kétszer desztillált vízhez adjuk kevertetés közben csepegtető szerkezeten keresztül 2 óra alatt. A maradékot 40 órán át 6°C hőmérsékleten tároljuk. Ez alatt finom szuszpenzió keletkezik. A részecskéket elválasztjuk, legelőször a felülúszót dekantálva. Az üledéket feliszapoljuk és kis adagokban centrifugáljuk (RC5C ultracentrifuga, 5-5 percen át 5000 fordulat/perc). A szilárd csapadékot összesen háromszor iszapoljuk fel kétszer desztillált vízben és újra centrifugáljuk. A szilárd anyagot összegyűjtjük és a mintegy 1000 ml szuszpenziót fagyasztva szárítjuk (Christ Delta 1-24 KD). 283 g fehér szilárd anyagot izolálunk (3a. példa: 71 % kitermelés). Az összegyűjtött felülúszót 18°C hőmérsékleten egy éjszakán át tároljuk. Ezt ugyanúgy dolgozzuk fel, ahogyan az előzőekben leírtuk. További 55 g fehér szilárd anyagot izolálunk (3b. példa: 14 % kitermelés). Az összkitermelés 85 %.

4. példa

A 3. példából való mikrorészecskék kénmentesítése.

A részecskékben maradt dimetil-szulfoxid leválasztásához az alábbiak szerint járunk el. 100 g amilóz részecskét a 9. példából 1000 ml ionmentesített vízhez adunk. A keveréket 24 órán át enyhén forgatjuk. A részecskék elválasztását úgy végezzük, ahogyan a 9. példában leírjuk (RC5C ultracentrifuga, 15 perc, 3000 fordulat/perc). A fagyasztva szárítás 98,3 g terméket ad (98 % kitermelés).

A kénmeghatározás elemanalízissel az alábbi értékeket eredményezi (a vizsgált eljárás égetés és IR kimutatás):

a részecskék kén tartalma a 2. példából: 6 % $\pm$ 0,1 %;

a részecskék kén tartalma a 3. példából: < 0,01 %.

5. példa

A 3. példából való részecskék tanulmányozása elektronmikroszkóp segítségével.

A részecskék jellemzéséhez rászteres elektronmikroszkópos felvételt (REM) (Camscan S-4) készítünk. A képek (1. és 2. ábra) a részecskék felvételét mutatják, amelyek elmagyarázzák, hogy gömb alakú, nagyon egységes részecskékről van szó az alakot, nagyságot és felületi érdességet illetően. A további képek (3. és 4. ábra) a keletkezett csomókat és/vagy agglomerátumokat mutatják be.

6. példa

A 3. példából való részecskék méreteloszlásának tanulmányozása.

Az 1. és 9. példából való részecskék méreteloszlásának jellemzését mintaosztályozóval (Mastersizer; a Malvern Instruments cég terméke) végzett vizsgálatokkal hajtjuk végre. A vizsgálatok a Fraunhofer módus szerint (kiértékelés: több módusú, darabszám) 1,080 g/cm³ sűrűséget és 0,012 % és 0,014 % közti tartományban levő térfogat koncentrációt eredményeznek.

1. TÁBLÁZAT

A 3. példából való mikrorészecskék részecske átmérőjének jellemzése

Példa	Átmérő			Részecske eloszlás		
Sorszám	dn^{*1} (mm)	dw^{*2} (mm)	dw/dn^{*3}	$d(10\%)^{*4}$ (mm)	$d(50\%)^{*5}$ (mm)	$d(90\%)^{*6}$ (mm)
3a	1,664	4,184	2,541	0,873	1,504	2,624
3b	0,945	2,435	2,481	0,587	0,871	1,399

dn^{*1} Az átmérők átlagértéke

dw^{*2} Az átmérők súlyozott átlagértéke

dw/dn^{*3} A részecske átmérők szórása

$d(10\%)^{*4}$ Az összes részecskék 10 %-ának kisebb átmérője van, mint a megadott érték

$d(50\%)^{*5}$ Az összes részecskék 50 %-ának kisebb átmérője van, mint a megadott érték

$d(90\%)^{*6}$ Az összes részecskék 90 %-ának kisebb átmérője van, mint a megadott érték

7. példa

Poli(1,4- α -D-glukán)-ból való mikrorészecskék hatótávolságainak meghatározása.

Az Andersen-impaktor (Andersen Samplers Inc., 4215 Wendell Drive, Atlanta, Georgia, Amerikai Egyesült Államok, amely megfelel Pharmacopoeia Europaeum, Stuttgart, Deutscher Apothekerverlag 1997, 2.9.18. fejezetében található D. készüléknek) egymástól elválasztott lemezek sorozatából áll, amelyek egyre kisebb lyukakkal (pórusokkal) vannak ellátva. Az aerodinamikai részecskemérettől függően történik a lerakódás az egyes lemezekre.

2. TÁBLÁZAT

Az Andersen-impaktor jellemzői

Szűrési fokozat	Lyuk átmérő [inch]	Lyuk átmérő [μ m]* ¹	A lyukak száma
0	0,1004	2550	96
1	0,0743	1887	96
2	0,0360	914	400
3	0,0280	711	400
4	0,0210	533	400
5	0,0135	342	400
6	0,0100	254	400
7	0,0100	254	201

*¹ A mm-ben levő adatokat a gyártó által megadott inch értékek átszámolásából kapjuk meg

Az Andersen-impaktoros kísérleteket a következőképpen végezzük el.

100 mg anyagot [itt a 3. és 4. példák szerint előállított, poli(1,4- α -D-glukán)-ból álló mikrorészecskék (csomók) három különböző mintája] az impaktor csatlakozó csonkjába beadunk és a szerelvényhez tartozó szivattyúval a szűrősorozaton átszívátjuk (szivattyú-teljesítmény: 35 liter/perc). 1 perc múlva a berendezést leállítjuk és az egyes szűrők (vagy terelőlapok) tömegét meghatározzuk. A mikrorészecskékre eső tömeget a későbbi ábrákban szerkesztjük meg. A jó repülési képességek minimális szivattyú teljesítménynél mindenek előtt akkor világosak, amikor a nagyobb tömegek a magasabb terelőlapokon tükröződnek vissza. A rajtponton maradó maradékot minimálissá tehetjük azáltal, hogy a részecskéket mechanikus rezgetéssel az impaktor csatlakozó csonkjánál lebegtetve tartjuk (lásd a 2. mintát).

A különböző poli(1,4- α -D-glukán)-ból álló minták viselkedését az Andersen-impaktorban az 5. ábrában mutatjuk be.

8. példa

További poliszacharidokból, szokásos inhaláló készítményekből való porok és szintetikus polimerekből való mikrorészecskék hatótávolságának meghatározása (összehasonlító példa).

Az összehasonlító példa műveleteit más, részben vízzoldható poliszacharidokkal, szokásos inhaláló készítményekből való anyagokkal és szintetikus, de biológiailag lebontható polimerekből való mikrorészecskékkel (összehasonlító példák) a 7. példa műveleteivel analóg módon hajtjuk végre. A poliszacharidoknál Toffena típusú burgonyakeményítőről (a Südstärke cég terméke) és Remygel típusú rizskeményítőről (a REMY cég terméke) van szó 100 mm-ig terjedő és 4 mm körüli részecskeméretekkel. Az inhaláló készítményeknél az Aerolizerről (1. inhaláló készítmény; a Ciba-Geigy cég terméke) és a Atemur Diskusról (2. inhaláló készítmény; a Cascan cég terméke) van szó. A polilaktid-ko-glikolidből (PLGA) készült mikrorészecskéket (PLGA

65:35-d, I; a Medisorb cég terméke) porlasztva szárítás segítségével állíthatjuk elő; ennek a terméknek az átmérője 2 és 15 mm között van.

Más, részben vízzeloldható poliszacharidok viselkedését Andersen-impaktorban (összehasonlító példa) a 6. ábrában mutatjuk be.

A szokásos inhaláló készítmények anyagainak és a szintetikus, biológiailag lebontható polimerekből való mikrorészecskéknek a viselkedését Andersen-impaktorban (összehasonlító példák) a 7. ábrában mutatjuk be.

9.példa

Poli(1,3- β -D-glukán)-ból való különböző geometriájú mikrorészecskék és az ezekből keletkezett agglomerátumok hatótávolságainak meghatározása.

Különböző méretű és felületi érdességű mikrorészecskék repülési és becsapódási viselkedését egy meghajlított csőben vizsgáljuk. A kísérlet alapját képezi részecskék és agglomerátumok optimális morfológiájának becslésének porinhaláló berendezésben (Dry Powder Inhaler) való alkalmazáshoz. Az alábbi feltételeket vesszük alapul a modellben: d levegő átáramlási csatorna = 20 mm; r_π levegősűrűség = 1,2 kg/m³; η levegő viszkozitás = 1,81.10⁻⁵ Pa s; V_π áramlási sebesség = 5 m/s; R kanyarsugár = 20 (200) mm; a kanyarszög = 45°; x részecske-átmérő = 1-5 mm; ρ_s szilárd anyag sűrűség = 1550 kg/m³; Ψ alaktényező = 1, és ezektől eltérők.

Mindenekelőtt összehasonlítjuk egymással a gömbalakú és nem gömb alakú részecskék viselkedését. A nem gömb alakú részecskéknek megadunk egy szerkezetet a geometria leírásához. Megállapítjuk az ülepedési sebességet a nehézségi erőterben levegőben, valamint egy ilyen részecske sugárirányú eltérését egy csőíven átáramlásnál. A kiszámított eltérés segítségével megbecsülhetjük, hogy a sok részecske csőíven való átáramlásakor hogyan érinti a falat és marad feltapadva, tehát ülepszik le.

A részecske alakjának eltérése a gömbtől a Ψ alaktényező segítségével írható le. Ez úgy határozható meg, mint azonos térfogatú gömb felületének viszonya a részecske tényleges felületéhez. A gömbnél $\Psi = 1$, a nem gömbformájú részecskénél $\Psi < 1$. Minél kisebb az alaktényező, annál előbb követi egy részecske a levegőáramlást és annál kevesebb csapódik le faltapadás révén. Az aerodinamikai átmérő fordítva arányos az alaktényezővel. Egy $\Psi = 0,8$ érték például a szilárd anyag sűrűség csökkenésének felel meg 1550 kg/m^3 -ról 1400 kg/m^3 -re.

Az első vizsgálatban egy sima gömböt egy érdekesebb felületű gömbbel hasonlítottunk össze. Az érdekességet kisebb gömbszelvények (gömbsüvegek) révén közelítjük meg, amelyek egy alapgömbre vannak felhelyezve. A szelvények egyrészt kívülről ("málnaszerkezet") másrészt belülről ("kráteres táj") lehetnek beállítva. A kívülről beállított szelvények $\Psi=0,958$ alaktényezőt biztosítanak, míg a belülről beállított szelvények $\Psi=0,946$ alaktényezőt biztosítanak. Ezen kívül a részecskék agglomerátumokat is képezhetnek. A kapott agglomerátumok (testek) ideális módon az alábbi elrendezéseket veszik fel legtömörebb gömbhalmaz elrendezésben (a tetraédert például lásd a 2. ábrában). A testek egyedi gömbök agglomerátumaiból vannak kialakítva és a következő szerkezetekkel bírnak: a) gömbökből felépült tetraéder 4 réteggel. Az élek mindig 4 gömbből vannak képezve. A tetraéder összesen 20 egyedi gömbből áll; b) testek 3 gömbretegből 3,7 és ismét 3 egyes gömbbel (kis kettős kúp); c) testek 5 rétegből, rétegenként 1; 3; 7; 3; és 1 gömbszámmal (nagy kettős kúp).

A 3. táblázat összefoglalja a becslések eredményeit. Paraméterként az összehasonlíthatósághoz csak a gömbalak eltérését figyeljük egy megadott $5 \mu\text{m}$ térfogat-egyenértékű részecskeátmérőnél. Azt figyeljük meg, hogy az egyes gömbök átmérője a fenti geometriának megfelelőhöz képest csekélyebb. Az ülepedési sebesség a gömbformától való növekvő eltéréssel csökken. Ennél

fogva csökken a leválasztási fok is egy csőíven való átáramlásnál. Az $5\text{ }\mu\text{m}$ átmérőjű gömbbel való összehasonlításban csökken a leválasztási fok az agglomerátumokból felépített részecske alakoknál 66 %-ra. Ennek a modellkísérletnek az eredményei a jelen találmány előnyös voltát támasztják alá, tekintettel a felületi érdességre, valamint az agglomerátumokra, amelyek sűrűbb gömbhalmaz formájában szerveződnek. Különösen az mutatkozik meg, hogy a csökkenő Ψ alaktényezővel, vagyis zéró felé haladva az aerodinamikai átmérő javul. Minél jobb az aerodinamikai átmérő, annál mélyebb a tüdőbe hatolás (légzésmélység).

3. TÁBLÁZAT

Becslési eredmények a fentebb leírt részecske-alakokhoz

	Alak- tényező Ψ	Agglo- merátum sűrűség [kg/m ³]	Ülepedési sebesség nehézségi erőtérben	Sugár- irányú eltérés [mm]	Levá- lasztási fok [%]
Gömb	1	1550	0,001165	0,466	2,33
Gömb (süveg belülről)	0,946	1550	0,001134	0,453	2,26
Gömb (süveg kívülről)	0,958	1550	0,001141	0,456	2,28
Agglomerátum, tetraéder	0,49	1430	0,000753	0,301	1,50
Agglomerátum, kettős kúp 3 sík	0,56	1390	0,000782	0,313	1,56
Agglomerátum, kettős kúp 5 sík	0,52	1405	0,000762	0,305	1,52

10. példa

A részecske terhelése hatóanyaggal szuszpenziós eljárással.

A poli(1,4- α -D-glukán)-ból álló mikrorészecskéket illetve agglomerátumokat (amelyeket a 3. és 4. példa szerint állítottunk elő) szuszpenziós eljárás segítségével hatóanyaggal terheljük meg. 250 mg buzerelint (5-oxo-L-prolil-L-hisztidil-L-triptofil-L-szeril-L-tirozil-O-terc-butil-D-szeril-L-leucil-L-arginil-N-etil-L-prolin-amid) 10 ml desztillált vízben feloldunk. 100 mg részecskét adunk hozzá. A szuszpenziót 3 órán át kevertetjük. A szuszpenziót centrifugáljuk. A centrifugált anyagot vízzel mossuk. A különleges szilárd anyagot centrifugával választjuk le (3000 fordulat/perc) és a centrifugált anyagot fagyasztva szárítjuk. Egy pontos mennyiségű részecske feloldásával víz-dimetil-szulfoxidban és spektroszkópiás méréssel UV-Vis-Spektrometerben, megfelelő kalibrációs görbét alkalmazva a buzerelinnel való terhelést 3,28 %-nak mérjük a részecskék összmennyiségére vonatkoztatva. A hatóanyaghoz alkalmazott oldószer módosításával például alkoholra az oldhatóságot és ezzel a részecskék hatóanyaggal terhelhetőségét befolyásolni lehet.

11. példa

A részecske terhelése hatóanyaggal porlasztva szárítás segítségével.

A mikrorészecskéket desztillált vízben, illetve víz és valamely könnyen illó alkotórész, például acetón vagy etanol keverékével szuszpendáljuk. Ehhez 10 g szilárd anyagot szuszpendálunk 1000 ml oldószerben. Az oldószerben először 0,5 g teofillint oldunk fel. A fagyasztva szárító berendezést (Mini Sprühtrockner 191, a Büchi cég terméke) a következőképpen üzemeltetjük: porlasztó levegőáram: 700 liter/óra; belépő hőmérséklet: 200 °C; bekapcsolt fűvókahűtés; fűvóka átmérő: 0,5 mm; légszívó: 70 %; szivattyú: 10 %. A megterhelés spektroszkópos fellülvizsgálata (amelynek leírása az előző példában található) 4,8 % terhelési fokot eredményez. Ez az érték összhangban van az elméletileg elérhető 5 % értékkel a hibahatárokon belül.

12. példa

A poliszacharidok oldhatóságának meghatározása.

100 mg poli(1,4- α -D-glukán)-t 5 ml kétszer desztillált vízhez adunk. A reakcióedényt keverés közben (mágneses keverő) lassan felmelegítjük. Egy lépcsőzetes program szerint 20 °C-t kitevő lépcsőkben melegítünk és szemmel vizsgálunk. 40 °C, 60 °C, 80 °C és 100 °C hőmérsékleteknél változás nem figyelhető meg. Ezen megfigyelések alapján a vegyülethez a "vízben oldhatatlan" tulajdonságokat rendeljük hozzá.

13. példa

Poliszacharidok oldhatóságának meghatározása, és osztályozás a Német Gyógyszerkönyv [Deutscher Arzneibuch (DAB)] szerint.

564 mg poli(1,4- α -D-glukán)-t mintegy 0,5 l kétszer desztillált vízben $1,3 \cdot 10^5$ Pa nyomáson és 130°C hőmérsékleten 1,5 órán át autoklávban melegítünk (Certoclav berendezés). A reakcióedényből a tömeget előzőleg lemérjük. Ezután a berendezést kinyitjuk és szobahőmérsékletre hűtjük le. A tartalmát lemérjük; ez 501,74 g-nak felel meg. További 24 óra múlva centrifugálunk és dekantálunk. A szilárd maradékot szárítjuk és lemérjük, így 468 mg anyagot kapunk. Ebből kiszámítjuk, hogy az oldott rész 96 mg-nak felel meg. Az alkalmazott oldószerre vonatkoztatva ebből kiszámítható, hogy 1 mg poli(1,4- α -D-glukán)-hoz 5226 mg víz szükséges. A Német Gyógyszerkönyv alapján álló osztályozás szerint ez az anyag a "nagyon nehezen oldható" beosztást kapja, mivel 1000 és 10000 rész közti oldószer szükséges, hogy 1 rész anyag oldatba menjen. Ez a 7 részes oldhatósági osztályozás szerint [a "nagyon könnyen oldható" osztálytól (1. osztály) a "gyakorlatilag oldhatatlan" osztályig (7. osztály)] a 6. számú osztályba sorolható.

14. példa

Poliszacharidok oldhatóságának meghatározása és osztályozás a Német Gyógyszerkönyv (DAB) szerint.

A kísérletet úgy hajtjuk végre, ahogyan 13. példában leírtuk. Az egyedüli különbséget egy hűtési folyamat jelenti, amelyet az autoklávos kezelés és a szobahőmérsékletre való lehűtés után kapcsolunk be. Az anyagkeveréket ekkor 5°C hőmérsékleten tartjuk 3 órán át.

526 mg poli(1,4- α -D-glukán)-t bemérünk 480 ml kétszer desztillált vízbe. A hőkezelés után a mérési eredmény 468,09 g-nak adódik. A száraz üledék 488 mg-ot nyom. Eszerint tehát 38 mg poli(1,4- α -D-glukán) megy oldatba. Ez 1 mg anyagra 12318 rész oldószernek felel meg. Ezért az anyag e szerint a kezelési eljárás szerint a 7. osztályba sorolandó be a DAB besorolás szerint, tehát a "gyakorlatilag oldhatatlan" osztályba, mivel több, mint 10000 rész oldószer szükséges 1 rész anyaghoz.

15. példa

Mikrorészecskék előállítása autoklávozott poli(1,4- α -D-glukán) szuszpenzióból.

3,5 g poli(1,4- α -D-glukán) port háromszor mosunk 60°C-os forró vízzel. Ezután 200 ml ionmentesített vízben szuszpendáljuk. A szuszpenziót laboratóriumi autoklávba (Pressure Vessels; 452 HCT 316 típus; a Parr Instruments Deutschland GmbH cég terméke) helyezzük. A berendezés belsejét nitrogénnel töltjük meg úgy, hogy $1,5 \cdot 10^5$ Pa nyomást érjünk el.

Az autoklávot kevertetés közben 130°C hőmérsékletre melegítjük. az autoklávozási idő ezen a hőmérsékleten 30 percet tesz ki. E közben mintegy $5 \cdot 10^5$ Pa nyomást érünk el.

Az autokláv lehűtése után a szuszpenziót kivesszük és azonnal kipermetezzük porlasztva szárítóban. E közben a szuszpenziót mágneses keverő segítségével folyamatosan kevertetjük.

A porlasztva szárító berendezést (Mini Sprühtrockner 191; a Büchi cég, Svájc terméke) a következő módon üzemeltetjük: porlasztó nitrogénáram: 700 liter/óra; belépési hőmérséklet: 220°C; bekapcsolt fűvókahűtés; fűvóka átmérő: 0,5 mm; légszívó: 70 %; szivattyú: 70 %.

A porlasztva szárított terméket a ciklon gyűjtőedényébe visszük és szárazon tartjuk. A mikrorészecskék átmérője több, mint 90 %-ban a 10 µm-nél kisebb tartományban van.

16. példa

Mikrorészecskék előállítás poli(1,4- α -D-glukán)-ból.

Megvizsgáljuk azt a lehetőséget, hogy a biológiai transzformálással közvetlenül kapott poliglukánt tüdőbe beadható részecskék előállítására használjuk fel. Ehhez 20 %-os szuszpenziót állítunk elő, amelyhez 500 g, 1. példa szerint előállított poli(1,4- α -D-glukán)-t 2,5 liter vízben szuszpendálunk. A szuszpenziót porlasztva szárítjuk. Ehhez a porlasztva szárítót (Mini Spray Dryer B-191; a Büchi cég terméke) a következő módon üzemeltetjük: porlasztó légáram 650 liter/óra; belépési hőmérséklet: 140°C; fűvóka hűtés nincs; fűvóka átmérő 0,7 mm; légszívó: 70 %; szivattyú: 30 %. A termék gyűjtő edényből 197,5 g fehér szilárd anyagot veszünk ki. A kitermelés 40 %-ot tesz ki. A részecskék több, mint 90 %-a az 1-10 µm átmérő tartományban található.

A hordozó anyagként való alkalmazhatóságot "száraz por"-ként (Dry Powder) való felhasználáshoz egy hatóanyag inhaláló adagjával a 7. példában leírt Andersen-impaktor berendezés segítségével határozzuk meg. Az eredmények a 8. ábrában bemutatják a porlasztva szárítással kapott részecskék elvi tüdőbe behatolhatóságát (lásd a 7. és 8. példákhoz tartozó 5-7. ábrákat is).

17. példa

A poli(1,4- α -D-glukán)-ból való mikrorészecskék és porok folyóképességének jellemzése List és munkatársai szerint [Arzneiformenlehre (Gyógyszerformázási

Kézikönyv); WVG kiadó; Stuttgart (1985); 2.10.1 fejezet].

100 g 3. és 4. példa szerinti, valamint 1. példa szerinti terméket ömlesztő garatba [Rieselfähigkeits-Prüfgerät (Ömlesztetőség vizsgáló berendezés), az Engelsmann cég (Ludwigshafen) terméke] töltünk, eközben a kiömlő nyílást zárva tartjuk. A kiömlő nyílást megnyitjuk és a port a lefolyás közben a keverő könyökkel egy hajtókar működtetésével átkeverjük. 2 perc állási idő után a porkúp átmérőjét és magasságát megmérjük és ebből meghatározzuk a lejtőszöget. A nagyobb ömlesztési térfogatoknál 100 g por helyett csak 50 g-ot használunk fel.

4. TÁBLÁZAT

Számítás: $\tan \alpha = h/r$ List fentebb idézett munkája szerint (53. és azt követő oldalak).

Száraz kötőanyag	Kúpmagasság	Kúpsugár	Lejtőszög
Egység	h cm-ben	r cm-ben	α° -ban
Mikrorészecskék a 3. és 4. példából	6,4	8,50	37,0
Por az 1. példából	3,6	6,25	29,9
Por az 1. példából	4,1	6,75	31,3

Különösen alkalmasak a $\leq 30^\circ$ lejtőszöggel bíró porok. A megfelelő referencia mérések az olyan jól folyó anyagokkal, mint az EMDEX, Avicel, Toffena, 30° körüli lejtőszöget adnak [lásd: Bauer, Fröming, Führer: Pharmazeutische Technologie, Stuttgart (1989); 345. oldal].

18. példa

Autoklávozott poli(1,4- α -D-glukán) szuszpenzióból előállított mikrorészecskék terhelése.

3,5 g poli(1,4- α -D-glukán) port háromszor mosunk 60°C hőmérsékletű meleg vízzel. Ezután ezt 200 ml ionmentesített vízben szuszpendáljuk. A szuszpenziót laboratóriumi autoklávba (Pressure Vessels; 452 HCT 316 típus; a Parr Instruments Deutschland GmbH cég terméke) visszük. A készülék belsejét nitrogénnel öblítjük úgy, hogy $1,5 \cdot 10^5$ Pa nyomást érjünk el.

Keverés közben az autoklávot 130°C hőmérsékletre melegítjük. Az autoklávozási idő ennél a nyomásnál 30 percet tesz ki. Így mintegy $5 \cdot 10^5$ Pa nyomás alakul ki.

Az autokláv lehűtése után a szuszpenziót kivesszük, 175 mg teofillint (amely 5 % terhelésnek felel meg) ebben feloldunk, és a hatóanyagot tartalmazó szuszpenziót porlasztva szárító berendezésben azonnal porlasztjuk. A szuszpenziót eközben mágneses keverő segítségével folyamatosan kevertetjük.

A porlasztva szárító berendezést (Mini Sprühtrockner 191; a Büchi cég, Svájc, terméke) a következő módon üzemeltetjük: porlasztó nitrogénáram: 700 liter/óra; belépési hőmérséklet: 220°C; bekapcsolt fűvókahűtés; fűvóka átmérő: 0,5 mm; légszívó: 70 %; szivattyú: 70 %.

A porlasztva szárított terméket (kitermelés legalább 25 % az autoklávba bevitt szilárd anyag mennyiségre vonatkoztatva) a ciklon (porleválasztó) felfogó edényéből kivesszük és szárazon tároljuk. A mikrorészecskék mérete 90 % fölötti mértékben a 10 μ m-nél kisebb mérettartományba esik (kiértékelés elektronmikroszkópos felvétellel).

A mikrorészecskék terhelését teofillinnel fotometriásan határozzuk meg. Ehhez 50 mg mintát 60°C hőmérsékleten 100 ml dimetil-szulfoxidban feloldunk és 271 nm-nél mérjük (Lambda 20 fotométer, a Perkin Elmer cég terméke). A terhelési

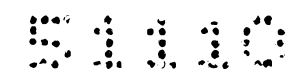
fok legalább 95 %.

20 mg, hatóanyaggal terhelt mikrorészecskét egy kereskedelmi forgalomban hozzáférhető száraz por inhalálóba (Dry Powder Inhalers) (Aerolizer, a Ciba-Geigy cég terméke) töltünk és a hatótávolságot megmérjük Andersen-impaktorban, ahogyan ezt a 7. példában leírtuk.

5-6. TÁBLÁZAT

A poli(1,4- α -D-glukán)-ból készült mikrorészecskék viselkedése Andersen-impaktorban
(minden érték mg-ban)

	Ciklon	Ciklon	Szűrő	Szűrő		
	Bemérés: 20,27	Bemérés: 20,31	Bemérés: 20,56	Bemérés: 20,17	Bemérés: 20,26	Bemérés: 19,82
Lyukas lemez	4,30	4,5	3,3	2,8	6,7	5,2
0	0,34	0,33	1,48	1,35	2,44	3,1
Lyukas lemez	0,30	0,27	0,7	0,6	1,1	1,3
1						
1	0,10	0,18	0,23	0,23	1,24	1,25
2	0,14	0,12	0,18	0,13	0,97	0,91
3	0,20	0,23	0,08	0,08	0,81	0,79
4	0,04	0,03	0,09	0,07	0,69	0,65
5	0,02	0,02	0,09	0,05	0,17	0,19
6	0,01	0,02	0,04	0,02	0,12	0,14
7	0,00	0,01	0,02	0,01	0,12	0,1
Kitermelés	5,45	5,71	6,21	5,34	14,36	13,63



5-6. TÁBLÁZAT /FOLYTATÁS/
(minden érték mg-ban)

	Ciklon	Ciklon	Szűrő	Szűrő		
	Bemérés: 20,27	Bemérés: 20,31	Bemérés: 20,56	Bemérés: 20,17	Bemérés: 20,26	Bemérés: 19,82
Lyukas lemez	78,90	78,81	53,14	52,43	46,66	38,15
0	6,24	5,78	23,83	25,28	16,99	22,74
Lyukas lemez	5,50	4,73	11,27	11,24	7,66	9,54
1	1,83	3,15	3,70	4,31	8,64	9,17
2	2,57	2,10	2,90	2,43	6,75	6,68
3	3,67	4,03	1,29	1,50	5,64	5,80
4	0,73	0,53	1,45	1,31	4,81	4,77
5	0,37	0,35	1,45	0,94	1,18	1,39
6	0,18	0,35	0,64	0,37	0,84	1,03
7	0,00	0,18	0,32	0,19	0,84	0,73
Kitermelés	100	100	100	100	100	100

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy legalább egy lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharidot foglal magában és közepes mérete kisebb, mint 10 μm .
2. Az 1. igénypont szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy agglomerátumot és/vagy csomót képez, amely kisebb, mint 60 μm .
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy keverékben áll rendelkezésre.
4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy részben vagy egészben legalább egy olyan vízben oldhatatlan lineáris poliszacharidból áll, amely valamely biotechnológiai eljárással lett előállítva.
5. Az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy részben vagy egészben legalább egy olyan vízben oldhatatlan lineáris poliszacharidból áll, amely valamely biokatalitikus eljárással lett előállítva.
6. Az 1-5. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy részben vagy egészben legalább egy olyan vízben oldhatatlan lineáris poliszacharidból áll, amely valamely fermentációs eljárással lett előállítva.
7. Az 1-6. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy a lineáris, vízben oldhatatlan poliszacharid poli(1,4- α -D-glukán).

8. Az 1-7. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy biológiailag összeférhető és/vagy gyógyászatilag elfogadható.
9. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása szabályozott hatóanyag leadáshoz.
10. Az 1-8. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó azzal jellemezve, hogy egy vagy több még további hatóanyagot is tartalmaz.
11. Az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása gyógyszerészeti kompozíciók előállításához.
12. Az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása olyan gyógyászati kompozíciók előállítására, amelyek gyógyászati hatást érnek el.
13. Az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása tüdőbeli (pulmonális) felhasználási formaként.
14. Az 1-9. vagy 16-17. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása tüdőbeli felhasználási formaként valamely száraz formázás segítségével.
15. Az 1-9. vagy 14. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozó alkalmazása tüdőbeli felhasználási formaként valamely száraz por inhaláló berendezéssel ("Dry Powder Inhaler") történő inhalálás segítségével.
16. Diszpergálható száraz kisserelés és/vagy por azzal jellemezve, hogy ezek az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti különleges hatóanyag hordozót foglalnak magukban.

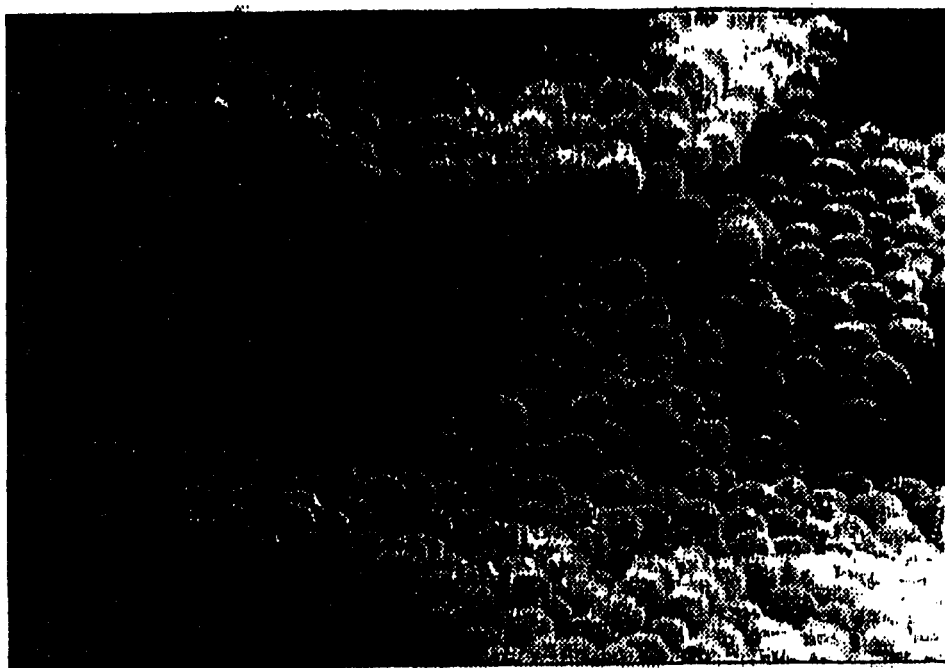
- 17.A 16. igénypont szerinti száraz kiszerelés és/vagy por azzal jellemezve, hogy ez kevesebb, mint 25 %, előnyösen kevesebb, mint 15 % és különösen előnyösen 5-10 % víztartalommal bír.
18. Gyógyászati kompozíció, amely valamely, az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti poliszacharidot tartalmaz a szokásos hordozó anyagok, segédanyagok és kiegészítő anyagok mellett.

A meghatalmazott:

ADVOPATENT
SZABADALMI ÉS VÉDJEGY IRODA
KARÁCSONYI BÉLA
szabadalmi ügyvivő

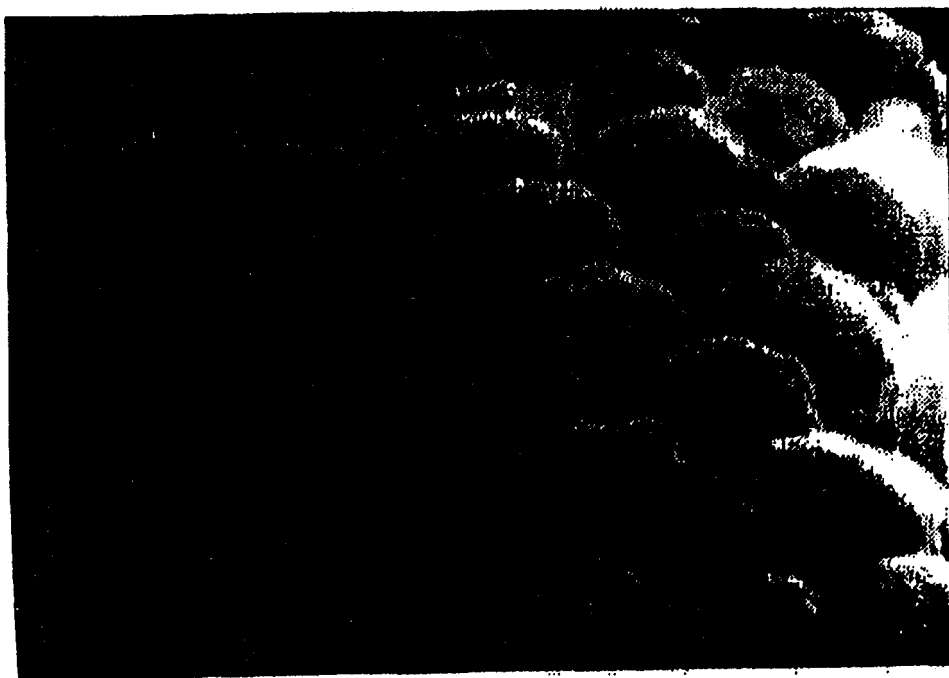
Sámy

1. ÁBRA



3 μ m

2. ÁBRA



1 μ m

PO101912

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

5 1 1 12/4

3. ÁBRA



3 μm

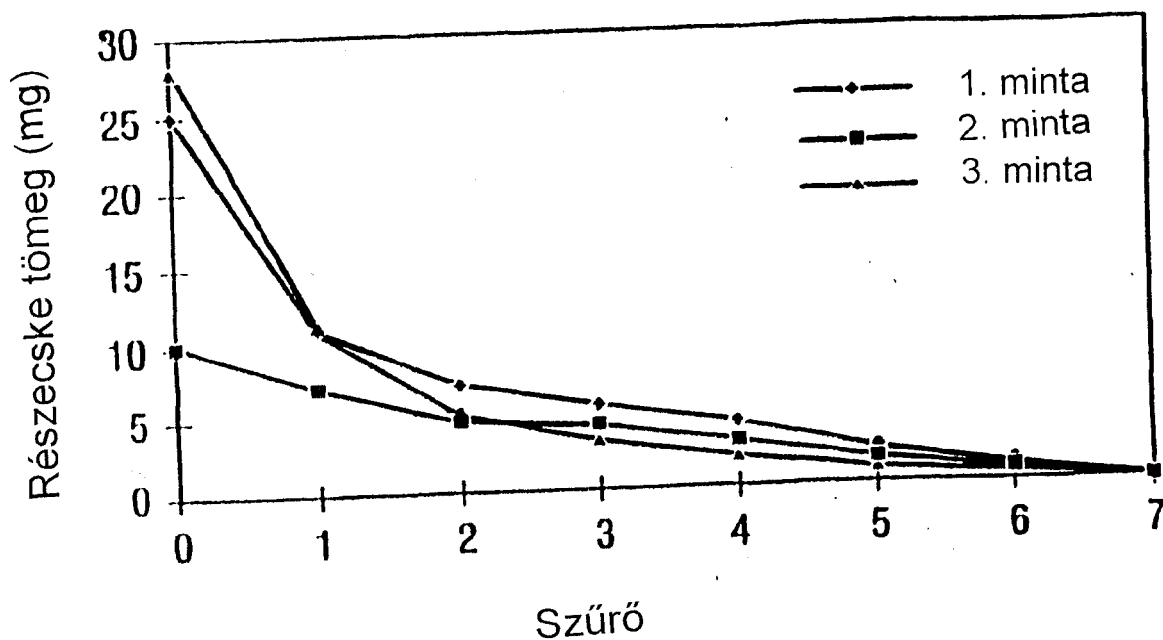
4. ÁBRA



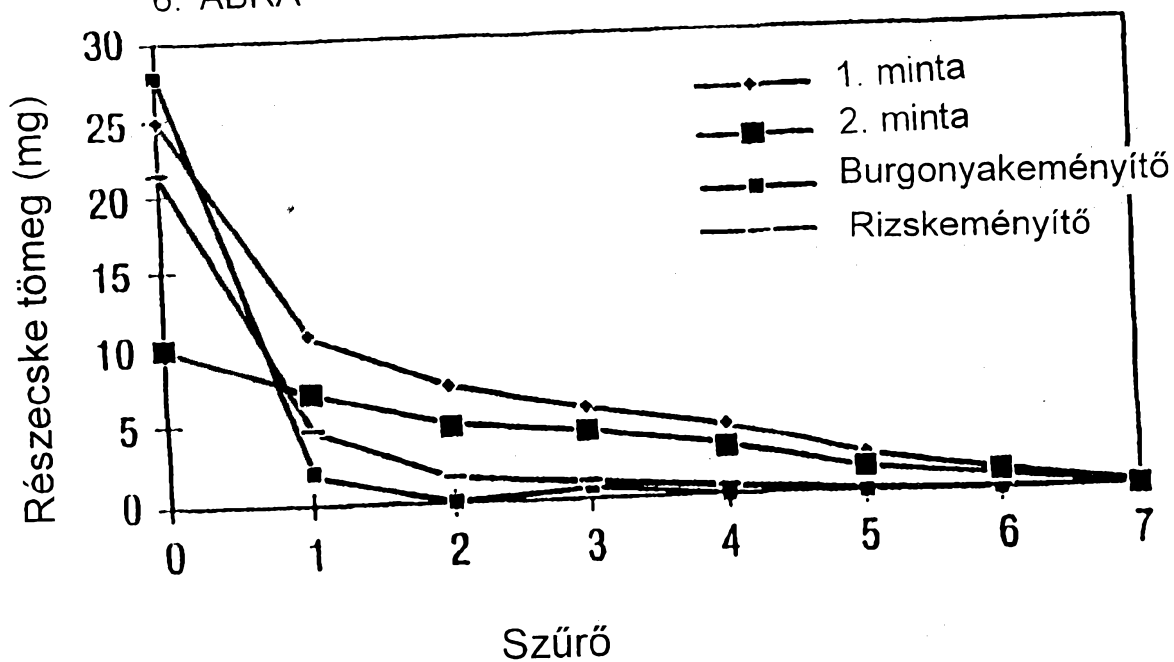
1 μm

ADVOPATENT
SZABADALMI ÉS VÉDŐJEGY IRODA
KARÁCSONYI BÉLA
szabadalmi ügyvivő

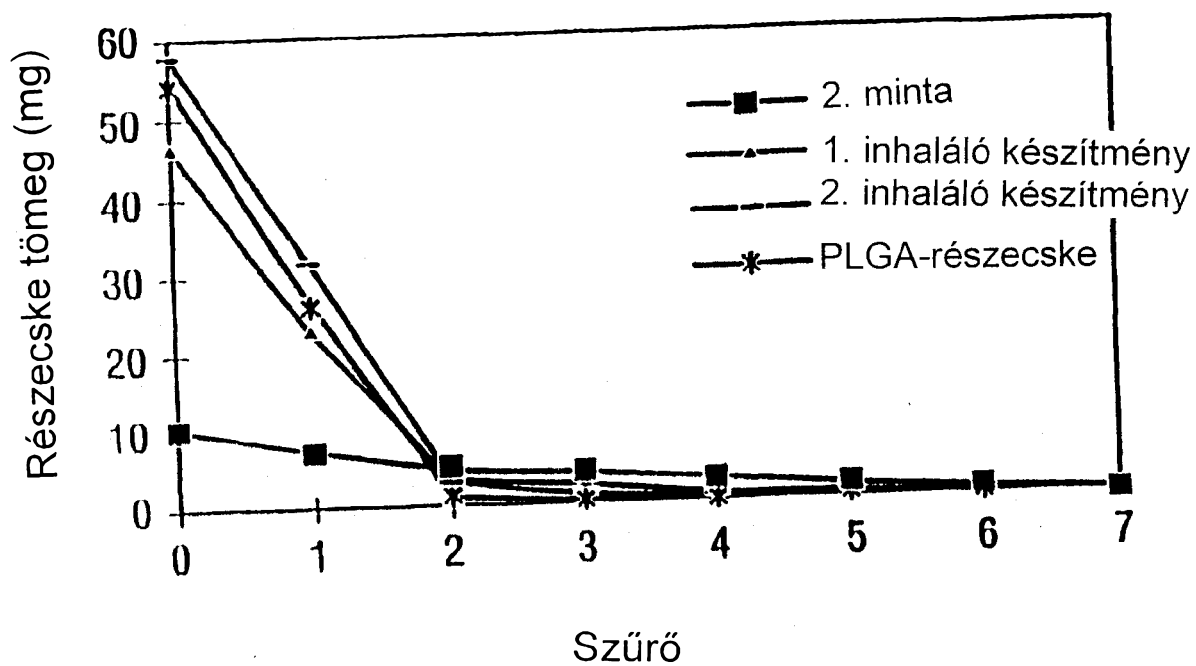
5. ÁBRA



6. ÁBRA



7. ÁBRA



8. ÁBRA

