

(19)



(10) **LT 3445 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **3445**

(51) Int.Cl.⁵: **A61K 9/72,
A61K 47/12**

(21) Paraiškos numeris: **IP1977**

(22) Paraiškos padavimo data: **1994 06 24**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 01 31**

(45) Patento paskelbimo data: **1995 10 25**

(31,32,33) Prioritetas: **9302198, 1993 06 24, SE
9400370, 1994 02 04, SE**

(72) Išradėjas:

**Kjell Goeran Erik Baeckstroem, SE
Carl Magnus Olof Dahlbaeck, SE
Peter Edman, SE
Ann Charlotte Birgit Johansson, SE**

(73) Patento savininkas:

Astra AB, S-151 85 Soedertaelje, SE

(74) Patentinis patikėtinis:

**Marlus Jakulis-Jason, 3, A.A.A.Baltic Service Company, Rūdninkų g. 18/2-12, 2001
Vilnius, LT**

(54) Pavadinimas:

Terapinis preparatas inhaliacijoms

(57) Referatas:

Terapinis preparatas inhaliacijoms, kuris sudarytas iš insulino ir medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, polipeptido absorbciją paciento plaučiuose, pateikiamas miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale.

Šis išradimas susijęs su terapiniu insulino preparatu, kuris tinka inhaliacijoms.

Insulinas vaidina pagrindinį vaidmenį organizmo angliavandenių, riebalų ir baltymų metabolizme. Diabetes mel-
 5 litus (cukraligė, cukrinis diabetas) (paprastai vadinamas tiesiog diabetu) tai liga, paaiškinanti metabolizmo, ypač gliukozės metabolizmo, reguliacijos sutrikimu. Normaliuose individuose padidėjęs gliukozės
 10 kiekis kraujyje (kaip antai kiekis tuoj po valgio) paskatina kasos salelių beta ląsteles išskirti į kraują insuliną, peptidinį hormoną. Insulinas prisiriša prie insulino receptorių, esančių ant daugelio ląstelių tipų, ypač raumenų ląstelių, ir tuo būdu
 15 praneša ląstelėms, kad reikia padidinti gliukozės išsiurbimą į ląsteles. Kai kraujo gliukozė grįžta prie normalaus kiekio, kuris buvo prieš valgymą, insulino kiekis kraujyje taip pat sumažėja. Kai nėra insulino, gliukozės kiekis kraujyje gali pakilti iki pavojingai
 20 aukšto lygio (būsenos vadinamos hiperglikemija), galinčio iššaukti mirtį. Per didelis insulino kiekis nenormaliai sumažina gliukozės kiekį kraujyje (hipoglikemija), kas taip pat pavojinga ir gali būti mirtina. Normaliuose individuose egzistuojančios grįž-
 25 tamojo ryšio grandinės, reguliuojančios insulino sekreciją ir jo pašalinimą iš didžiojo kraujo apytakos rato, užkerta kelią tiek hiperglikemijai tiek ir hipoglikemijai.

30 Cukraligė - tai liga, paveikusi apie 3% Švedijos populiacijos. Iš šių 3% apytiksliai 20% serga I tipo cukralige, o likusieji II tipo cukralige.

I tipo cukraligė arba nuo insulino priklausoma cukraligė (IDDM), paprastai prasideda vaikystėje. Ji apibūdinama kasos beta ląstelių atrofija, kuri sukelia

insulino gamybos sumažėjimą ar sustabdymą, ir tokio paciento gyvybė priklauso tik nuo egzogeninio insulino.

5 Dažnesnė II tipo cukraligė arba nepriklausoma nuo insulino cukraligė (NIDDM) paprastai išsivysto pacien-
tams vyresnio amžiaus negu 40 metų. Šie ligoniai gali
turėti bent jau pradžioje, normalų ar net didesni
insulino kiekį kraujyje, bet turėti nenormaliai žemą
gliukozės išsiurbimo greitį į ląsteles, atsakant į
10 insuliną. Nors II tipo cukraligę dažnai galima išgydyti
reguliuojant ligonio dietą, įvedimas egzogeninio insu-
lino, kaip priedo prie sekretuojamo ligonio beta ląs-
telėse, taip pat gali pasirodyti būtinas.

15 Insulino veiklių dozių negalima įvesti orališkai,
kadangi jis greitai degraduoja dėl fermentų virškinimo
trakte ir žemo pH skrandyje, prieš jam pasiekiant
kraują. Standartinis įvedimo būdas - tai izotoninio
insulino tirpalo išvirkštymas po oda, kuri atlieka pats
20 ligonis. Injekcijų būtinumas sukelia daug sunkumų ir
nepatogumų daugumai ligonių, bei gali atsirasti vie-
tinės reakcijos injekcijų vietose. Be to, išvirkštus
insuliną gaunamas nenormalus nefiziologinis koncent-
racijos profilis plazmoje. Šis nenormalus koncent-
25 racijos profilis plazmoje yra nepageidaujamas ir
padidina šalutinių poveikių, susijusių su ilgalaikiu
cukraligės gydymu, rizikos lygį.

Dėl šių trūkumų, tenka ieškoti tokios insulino formos,
30 kuri galėtų būti įvedama kitaip, negu išvirkščiant.
Stengiantis atrasti tokią insulino formą, buvo pateikti
įvairūs pasiūlymai. Pavyzdžiui, buvo pasiūlyti pro-
duktai, skirti įvesti per nosį, burnos ertmę ar
tiesiąją žarną, ypač daug pastangų įdėta produktuose,
35 įvedamuose per nosį. Tačiau įvedimas per nosį yra
problematiškas ir duoda tik labai žemą biologinį pri-
einamumą. Paskutiniaisiais metais sustiprėjo domėjimasis

sistemingai aktyvių vaistų įvedimu per plaučius ir tame tarpe buvo atlikti kai kurie tyrimai, įvedant insuliną per plaučius. Daygumas iš jų buvo skirti įvesti per plaučius tirpalus ar suspensijas, pavyzdžiui, panaudojant purkštuvus ir matuojamų dozių inhaliatorius su slėgimu, bet visi turėjo ribotą sėkmę.

Mes aptikome, kad insulinas taip pat gali būti įjungtas į sausų miltelių preparatą, skirtą inhaliacijoms, taip pat įjungiant medžiagą, kuri pagreitina insulino absorbciją plaučiuose, ir iš šio preparato insulinas gali būti absorbuojamas terapiškai priimtiniu greičiu ir kiekiu. Terminas "pagreitinata absorbcija" reiškia, kad insulino kiekis, absorbuotas į didįjį kraujo apytakos ratą, esant skatintojui yra didesnis, negu kiekis absorbuotas be skatintojo.

Taigi pagal šį išradimą paruošiamas terapinis preparatas, sudarytas iš aktyviųjų junginių (A) insulino ir (B) medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemenuosiuose kvėpavimo takuose, bei šis preparatas yra sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale, kuriame bent 50% visos aktyviųjų junginių masės sudaro (a) pirminės dalelės, kurių skersmuo mažesnis už apytiksliai 10 mikronų, pvz., tarp 0,01 ir 10 mikronų, geriau tarp 1 ir 6 mikronų, arba (b) minėtųjų dalelių aglomeratai.

Terapinis preparatas, pagal šį išradimą, gali turėti tik minėtuosius aktyviuosius junginius arba jis gali turėti kitas medžiagas, kaip antai farmciškai priimtina nešiklį. Didžioji šio nešiklio dalis gali būti sudaryta iš dalelių, kurių skersmuo mažesnis už apytiksliai 10 mikronų, kad bent 50% gautų miltelių, kaip visumos, būtų pasirinktinai sudaryti iš aglomeruotų pirminių dalelių, kurių skersmuo mažesnis už apytiksliai 10 mikronų; iš kitos pusės, didžioji nešiklio dalis gali

būti sudaryta iš daug didesnių dalelių ("stambiųjų dalelių"), todėl gali susiformuoti "sutvarkytas mišinys" tarp aktyviųjų junginių ir minėtojo nešiklio. Sutvarkytame mišinyje, kitaip dar saveikiniame arba
5 lipiajame mišinyje, smulkios vaistų dalelės (šiuose išradime aktyvieji junginiai) gana vienodai pasiskirsto po stambesniųjų ekscipiento dalelių (šiuose išradime farmaciškai priimtino nešiklio) paviršių. Geriau kai tokiu atveju aktyvieji junginiai nesudaro aglomeratų
10 prieš suformuojant sutvarkytąjį mišinį. Stambiosios dalelės gali turėti skersmenį virš 20 mikronų, pavyzdžiui, 60 mikronų. Virš šių apatinių ribų stambiųjų dalelių skersmuo nėra labai svarbus, todėl gali būti panaudotos įvairaus dydžio stambiosios dalelės, jei
15 reikia, taip pagal praktinius tam tikro recepto reikalavimus.

Nors nėra reikalavimo, kad stambiosios dalelės sutvarkytame mišinyje turėtų vienodą dydį, tačiau pranašiau
20 kai stambiosios dalelės sutvarkytame mišinyje yra panašaus dydžio. Labiau priimtina, kai stambiosios dalelės turi skersmenį 60-800 mikronų.

Taigi atskirame įgyvendinime, šis išradimas pateikia
25 terapinį insulino ir medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, preparatą, kuris yra sausų miltelių pavidale, tinkamame inhaliacijoms ir kuriame bent 50% visos masės sudaryta iš (a) dalelių turinčių skersmenį, mažesnę už apytiksliai 10 mikronų, arba (b) minėtųjų dalelių
30 aglomeratų; kitame konkrečiame įgyvendinime išradimas siūlo terapinį preparatą, sudarytą iš insulino, medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, ir farmaciškai priimtino nešiklio,
35 šis preparatas yra sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale ir bent 50% jo visos masės sudaryta iš (a) dalelių, turinčių skersmenį, mažesnę už apy-

tiksliai 10 mikronų, arba (b) minėtųjų dalelių aglomeratų; ir dar kitame atskirame įgyvendinime išradimas siūlo terapinį preparatą, sudarytą iš aktyviųjų junginių (A) insulino ir (B) medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, bei šiame preparate bent 50% visos aktyviųjų junginių, (A) ir (B) masės sudaryta iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesni už apytiksliai 10 mikronų, ir farmaciškai priimtino nešiklio, bei šis preparatas yra inhaliacijoms tinkamame sausų miltelių pavidale, kuriame gali susiformuoti sutvarkytas mišinys tarp aktyviųjų junginių ir farmaciškai priimtino nešiklio.

Labiau priimtiniuose įgyvendinimuose bent 60%, kaip antai bent 70%, ar bent 80% ir dar geriau bent 90% visos aktyviųjų junginių masės, (A) ir (B), sudaryta iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesni už apytiksliai 10 mikronų, arba iš tokių dalelių aglomeratų, o kai sausų miltelių preparatas turi nešiklį, neskirtą sudaryti sutvarkytiems mišiniams, geriau kai bent 60%, kaip antai bent 70%, ar bent 80% ir dar geriau bent 90% visos sausų miltelių masės, sudaryta iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesni už apytiksliai 10 mikronų, arba iš tokių dalelių aglomeratų.

Nors sausi milteliai inhaliacijoms, turintys ar neturintys farmaciškai priimtina nešiklį, gali turėti dalelių aglomeratų, kaip paminėta aukščiau, įkvėpimo metu bet kurie aglomeratai turi būti žymia dalimi suskaidyti, kad gautųsi milteliai, kurie bent 50% sudaryti iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesni už apytiksliai 10 mikronų. Aglomeratai gali susidaryti dėl kontroliuojamo aglomerizacijos proceso arba tiesiog dėl artimo kontakto tarp miltelių dalelių. Bet kuriuo atveju svarbu, kad aglomeratai sugebėtų suirti, pvz., veikiant mechaniškai inhaliatoriuje ar kitu būdu, į anksčiau minėtasias daleles. Bendru atveju, geriau kai

sutvarkytuose mišiniuose aglomeratai nesusidaro. Sutvarkyto mišinio atveju, aktyvieji junginiai turėtų būti atpalaiduojami nuo didžiųjų dalelių įkvėpimo arba mechaninių priemonių pagalba inhaliatoriuje, arba
5 kitomis priemonėmis, tada aktyvieji junginiai nusėda žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, o nešiklio dalelės burnoje.

Šiame išradime gali būti panaudotos įvairios insulino
10 formos ar dariniai. Pavyzdžiui, gali būti panaudotas jaučio, kiaulės arba biosintetinis ar pusiasintetinis žmogaus insulinas, arba biologiškai aktyvus žmogaus insulino darinys ("modifikuotas insulinas"), pavyzdžiui, turintis tam tikrų amino rūgščių pakaitas, kaip
15 išdėstyta Brage ir kt. "Diabetes care" 13:923, 1990. Modifikuotas insulinas kuriamas tam, kad pagerėtų įvairios savybės, pavyzdžiui, pagerėtų stabilumas arba gautųsi geresnė farmakinetinė forma (t.y. geresnė absorbcijos per epitelinę membraną forma). Insulinas
20 privalo turėti mažai cinko, nes cinkas mažina insulino tirpumą, greičiausiai sumažindamas insulino absorbcijos greitį, ir taip pat todėl, kad cinkas gali sudaryti netirpias nuosėdas su kai kuriomis skatinančiomis medžiagomis, kurias galima panaudoti šiame išradime. Be
25 to, insulinas turi būti sausų miltelių pavidale, kurie gali greitai ištirpti vandeniniame tirpale.

Medžiagos, kurios pagerina insulino absorbciją plaučiuose, toliau čia vadinamos skatintojais, gali būti
30 bet kurios iš eilės junginių, kurie gerina absorbciją pro apatinių kvėpavimo takų epitelinį ląstelių sluoksnį į gretimą plaučių apytakos indus. Skatintojas tai gali atlikti keliais galimais būdais:

35 (1) Paraląstelinio laidumo insulinui pagerinimas, sukeliant struktūrinius pokyčius kietuose sujungimuose tarp epitelinų ląstelių.

(2) Tarpląstelinio pralaidumo insulinui pagerinimas, sąveikaujant su membranos proteinais ar lipidais arba ekstrahuojant membranos proteinus ar lipidus, tuo būdu paveikiant membranos vientisumą.

5

(3) Sąveika tarp skatintojo ir insulino, kuri padidina insulino tirpumą vandeniniame tirpale. Tai galima atlikti neleidžiant susiformuoti insulino agregatams (dimerams, trimerams, heksamerams) arba ištirpinant insulino molekules skatintojo micelėse.

10

(4) Gleivinio barjero, išklojančio alveoles ir kelius į plaučius, klampumo sumažinimas arba ištirpdymas, tuo būdu apnuoginamas epitelio paviršius tiesiogiai absorbuoti insuliną.

15

Skatintojas gali veikti arba pagal vieną iš mechanizmų, pateiktų aukščiau, arba pagal du ir daugiau. Skatintojas, kuris veikia pagal kelis mechanizmus, turi didesnes galimybes paskatinti efektyvią polipeptido absorbciją, negu tas skatintojas, kuris naudoja tik vieną ar du mechanizmus. Pavyzdžiui, paviršiaus aktyviosios medžiagos tai skatintojų klasė, kuri, kaip manoma, veikia pagal visus keturis mechanizmus, pateiktus aukščiau. Paviršiaus aktyviosios medžiagos yra amfifilinės molekulės, turinčios tiek lipofilinę tiek ir hidrofilinę pusę, su kintančiu šių dviejų charakteristikų balansu. Jei molekulė yra labai lipofilinė, tai mažas medžiagos tirpumas vandenyje gali riboti jos naudingumą. Tačiau, jei žymiai dominuoja hidrofilinė pusė, tai molekulės paviršiaus aktyviosios savybės gali būti minimalios. Taigi, kad būtų efektyvi, paviršiaus aktyvioji medžiaga turi pataikyti į tam tikrą balansą tarp pakankamo tirpumo ir pakankamo paviršiaus aktyvumo.

20

25

30

35

Kita paviršiaus aktyviosios medžiagos savybė, kuri gali būti svarbi, tai paviršiaus aktyviosios medžiagos grynasis krūvis prie plaučių pH reikšmės (apytiksliai 7,4). Insulino izoelektrinis pH yra 5,5. Prie pH 7,4

5 insulinas turi neigiamą grynąją krūvį. Tai gali sukelti elektrostatinį atstūmimą tarp insulino molekulių, kuris savo ruožtu neleidžia agreguotis ir todėl padidina tirpumą. Jei paviršiaus aktyvioji medžiaga taip pat

10 turi neigiamą krūvį, tai ji gali sąveikauti su insulinu, pavyzdžiui, hidrofobiškai, ir todėl atsiras papildoma stūma tarp insulino molekulių. Taigi anijoninė paviršiaus aktyvioji medžiaga turės papildomą pranašumą (lyginant su tomis, kurios yra neutralios ar turi teigiamą grynąją krūvį prie fiziologinio pH)

15 gerinant absorbciją, padėdama stabilizuoti insuliną monomeriniame stovyje.

Visa eilė skirtingų junginių, potencialiai naudingų kaip skatintojai šio išradimo būduose, buvo išbandyti

20 ant žiurkių, kaip aprašyta žemiau 5 pavyzdyje. Kitos medžiagos su žinomomis absorbciją skatinančiomis savybėmis arba su fizikinėmis savybėmis, kurios padaro jas tinkamais kandidatais šio išradimo būdams, lengvai gali būti patikrintos asmens, turinčio įprastinę patirtį,

25 tokiuose in vivo bandymuose arba, kitu būdu, in vitro bandymuose, aprašytuose 6 pavyzdyje.

Gali būti, kad derinys iš dviejų ar daugiau skatinančiųjų medžiagų taip pat duos patenkinančius rezultatus. Laikoma, kad išradimas apima tokių derinių panaudojimą šio išradimo būduose.

30

Skatintojas, naudingas šio išradimo būduose, turi suderinti efektyvų insulino absorbcijos gerinimą su

35 (1) toksiškumo nebuvimu prie naudojamų koncentracijų ir (2) geromis miltelių savybėmis, t.y. neturėjimu lipnios ar vaškinės konsistencijos kietame būvyje. Medžiagos

toksiškumas gali būti patikrintas standartiniais metodais, kaip antai MTT bandymais, kaip, pavyzdžiui, aprašyta Int. J.Pharm., 65 (1990), 249-259. Duotos medžiagos miltelių savybės gali būti nustatytos iš publikuotų duomenų apie medžiagą arba empiriškai.

Vienas iš daug žadančių skatintojų yra riebiosios rūgšties druska. Buvo pastebėta, kad sočių riebiųjų rūgščių natrio druska, kurių anglies grandinės ilgis yra 10 (t.y., natrio kapratas), 12 (natrio lauratas) ir 14 (natrio miristatas) gerai veikia šio išradimo būde. Pastebėta, kad kaprino rūgšties kalio ir lizino druskos taip pat yra efektyvios šio išradimo būde. Jei anglies grandinės ilgis trumpesnis už apytiksliai 10, paviršiaus aktyviosios medžiagos paviršinis aktyvumas gali būti per mažas, o jei grandinės ilgis ilgesnis už apytiksliai 14, tai sumažėjęs riebiosios rūgšties tirpumas vandenyje riboja jos naudingumą.

Labiausiai tinkama šiam išradimui medžiaga, kuri gerina insulino absorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, yra natrio kapratas.

Taigi ypatingai priimtiname išradimo įgyvendinime, išradimas pateikia farmacinę kompoziciją, turinčią aktyviuosius junginius, (A) insuliną ir (B) natrio kapratą, sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale, kuriame bent 50% visos aktyviųjų junginių, (A) ir (B), masės sudaro (a) pirminės dalelės, kurių skersmuo mažesnis negu apytiksliai 10 mikronų, pavyzdžiui, tarp 0,01 ir 10 mikronų ar geriau tarp 1 ir 6 mikronų, arba (b) šių dalelių aglomeratai; konkrečiai ypač priimtinas šio išradimo įgyvendinimas pateikia:

terapinį insulino ir natrio kaprato preparatą, kuris yra sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale ir bent 50% jo masės sudaro (a) pirminės dalelės, kurių

skersmuo mažesnis negu 10 mikronų arba (b) šių dalelių aglomeratai;

5 terapinį preparatą, sudarytą iš insulino, natrio kaprato, ir farmaciškai priimtino nešiklio, šis preparatas yra sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale ir bent 50% jo visos masės sudaryta iš (a) dalelių, turinčių skersmenį, mažesnę už apytiksliai 10 mikronų arba (b) minėtųjų dalelių aglomeratų; ir

10

terapinį preparatą, sudarytą iš aktyviųjų junginių, (A) insulino ir (B) natrio kaprato, bei šiame preparate bent 50% visos aktyviųjų junginių, (A) ir (B), masės sudaryta iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesnę už 15 apytiksliai 10 mikronų, ir farmaciškai priimtino nešiklio, šis preparatas yra sausų miltelių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale, kuriame gali susiformuoti sutvarkytas mišinys tarp aktyviųjų junginių ir farmaciškai priimtino nešiklio.

20

Skirtingi priešingo krūvio jonai gali pakeisti sočių riebiųjų rūgščių druskų tirpumą vandenyje taip, kad gali pasirodyti, jog skatintojas, turintis anglies grandinę ne 10-14 ilgio, bus net pranašesnis už 25 skatintojus, konkrečiai paminėtus aukščiau. Nesočių riebiųjų rūgščių druskos taip pat gali būti naudingos šiame išradime, kadangi jos geriau tirpsta vandenyje negu sočiųjų riebiųjų rūgščių druskos, ir todėl gali turėti ilgesnę grandinę nei pastarosios, bei vis dar 30 išlaikyti tirpumą, būtiną sėkmingai pagerinti insulino absorbciją.

Tulžies druskos ir tulžies druskų dariniai buvo išbandyti kaip skatintojai šio išradimo būde. Visos 35 testuotosios (ursodezoksicholato, taurocholato, gliokholato ir taurodihidrofuzidato natrio druskos) efektyviai pagerina insulino absorbciją plaučiuose.

Fosfolipidai taip pat buvo patikrinti kaip skatintojai. Buvo aptikta, kad vienos grandinės fosfolipidas (lizo-
fosfatidilcholinai) buvo geras skatintojas, tuo tarpu
dvigrandiniai fosfolipidai (dioktanoilfosfatidilcho-
linas ir didekanoilfosfatidilcholinai) nebuvo gerais
5 skatintojais. Tai galima būtų paaiškinti tuo, kad
dvigrandiniai fosfolipidai yra daug mažiau tirpūs
vandenyje už jų viengrandinius atitikmenis; tačiau
natūralu tikėtis, jog dvigrandiniai fosfolipidai su
10 trumpesne grandine, labiau tirpūs vandenyje už jų
ilgesnių grandinių antrininkus, galės būti panaudoti
kaip skatintojai šiame išradime, taigi tiek vienos,
tiek ir dviejų grandinių fosfolipidai gali būti
panaudoti.

15 Buvo išbandytas vienas glikozidas, oktilgliukopi-
ranozidas, kaip šio išradimo skatintojas ir aptikta,
kad jis turi šiokių tokių skatinančių savybių. Kiti
alkilų glikozidai, pavyzdžiui, tiogliukopiranozidai ir
20 maltopiranozidai, galima tikėtis, taip pat demonstruos
absorbcijos gerinimo savybes šio išradimo būduose.

Ciklodekstrinai ir jų dariniai efektyviai gerina
insulino absorbciją nosyje ir galėtų panašiai veikti
25 plaučiuose. Dimetil- β -ciklodekstrinas buvo išbandytas
šio išradimo būde ir gautas absorbciją gerinantis po-
veikis.

Kitos potencialiai naudingos paviršiaus aktyviosios
30 medžiagos tai natrio salicilatas, natrio 5-metoksi-
salicilatas ir natūraliai egzistuojančios paviršiaus
aktyviosios medžiagos, kaip antai glicilrizino rūgšties
druskos, saponino glikozidai ir acilo karnitinai.

35 Joninių skatintojų (pvz., aukščiau aprašytų anijoninių
paviršiaus aktyviųjų medžiagų) atveju gali būti svarbi
priešingo krūvio jono kilmė. Konkretus priešingo krūvio

jonas gali turėti įtakos skatintojo ar bet kokio preparato, turinčio skatintoją, miltelių savybėms, tirpumui, stabilumui, higroskopiškumui ir lokaliai/bendram toksiškumui. Jis taip pat gali paveikti insulino, su kuriuo jis derinamas, stabilumą ir/arba tirpumą. Bendru atveju, reiktų laukti, kad monovalentiniai metalų kationai, kaip antai natris, kalis, litis, rubidis ir cезis, bus naudingi kaip priešingo krūvio jonai anijoniniams skatintojams. Amoniakas ir organiniai aminai sudaro kitą klasę katijonų, kurie, kaip laukiama, tiks panaudojimui su anijoniniais skatintojais, turinčiais karboksilinės rūgšties grupę. Tarp tokių organinių aminų yra etanolaminas, dietanolaminas, trietanolaminas, 2-amino-2-metilaminas, betainai, etilendi-aminas, N,N-dibenziletilentetraaminas, argininas, heksametilentetraaminas, histidinas, N-metilpiperidinas, lizinas, piperazinas, spermidinas, sperminas ir tris-(hidroksimetil)aminometanas.

Kadangi efektyvus insulino absorbcijos plaučiuose pagerinimas buvo aptiktas su daugeliu iš išbandytų skatintojų, galima laukti, kad dar daugiau bus jų atrasta, veikiančių taip pat panašiu būdu. Krakmolo mikrosferos efektyviai gerina insulino, įvesto pro nosies membraną, biologinį prieinamumą ir buvo išbandytos kaip skatintojas šio išradimo būduose. Nors jos pasirodė nelabai naudingos įvedant per plaučius modelio su gyvūnu atveju, kuris čia buvo naudojamas, reikia manyti, kad tai atsitiko pagrinde dėl techninių sunkumų, ir juos įveikus įvedimas per plaučių traktą gali būti sėkmingas. Chelatai - tai skatintojų klasė, kuri, manoma, veikia surišdama kalcio jonus. Kadangi kalcio jonai padeda išlaikyti tarpų tarp ląstelių išmatavimus ir priedo sumažina insulino tirpumą, šių jonų surišimas teoriškai turi tiek padidinti insulino tirpumą, tiek ir padidinti paraląstelinį insulino skvarbumą. Nors vienas ištirtas chelatas, etilen-

diamintetraacto rūgšties natrio druska (EDTA), pasirodė neefektyvus gerinant insulino absorbciją išbandytame žiurkės modelyje, kiti kalci surišantys chelatiniai reagentai, gali pasirodyti labiau vertingais.

5

Bendru atveju insulino ir skatintojo santykį reikia laikyti kaip galima didesni, ribose, kuriose greitai ir efektyviai skatinama insulino absorbcija. Tai svarbu, kad būtų galima minimizuoti skatintojo sukeltus nepalankius poveikius, tiek lokaliai tiek sistemiškai. Optimalus insulino ir skatintojo santykis gali būti nustatytas kiekvienam duotajam skatintojui bandant įvairias proporcijas in vivo modeliuose, kaip čia aprašyta. Pavyzdžiui, insulinas buvo derinamas su natrio kapratu šiomis svoris/svoris proporcijomis: 50/50, 75/25, 82,5/17,5 ir 90/10. Žymus insulino absorbcijos pagerėjimas buvo gautas su 50% ir 25% natrio kaprato; 10% davė nedidelį absorbcijos padidėjimą, o 17,5% davė tarpinius rezultatus. Tai nurodo, kad mažiausia efektyvi natrio kaprato koncentracija, naudojant šio išradimo būduose, yra apytiksliai 15-25% ir galbūt 20-25%. Kiti skatintojai gali turėti didesnes ar mažesnes optimalias koncentracijas, lyginant su insulinu, ir todėl kiekvienas individualus skatintojas turi būti išbandytas atskirai. Tačiau pasirėmus aukščiau aprašytais rezultatais, reiktų laukti, jog optimalus proporcijos skatintojui, kuris yra paviršiaus aktyvioji medžiaga, bendru atveju bus tarp 10 ir 50% insulino/skatintojo mišinio, pavyzdžiui, tarp 15 ir 50% kaip, kad tarp 25% ir 50%. Reikia pažymėti, jog aukščiau pateiktos proporcijos atstovauja proporcijoms susijusioms vien tik su insulinu ir neįvertinamas joks nešiklis ar kitas priedas, kurie gali būti pridėti, pavyzdžiui, kad pagerėtų preparato miltelių savybės.

35

Absorbuoto insulino kiekis, pagal šį išradimą, gali būti žymiai didesnis už kiekį absorbuotą be skatintojo.

4 pavyzdyje parodyta, kad terapinis preparatas, pagal šią išradimą, kai įkvepiamas, demonstruoja biologinį prieinamumą gerokai didesnę už tris kartus, negu įkvėptas preparatas vien iš insulino.

5

Labiau priimtina, kai absorbuoto insulino kiekis, pagal šią išradimą, patikimai didesnis ($p < 0,05$) už kiekį absorbuotą be skatintojo.

- 10 Kaip išdėstyta aukščiau, papildomos medžiagos, papras-
tai vartojamos terapiniuose preparatuose, kaip antai
farmaciškai priimtini nešikliai, gali būti įjungti į
terapinį preparatą pagal šią išradimą. Papildomos
medžiagos gali būti įjungiamos, pavyzdžiui, tam, kad
15 milteliai atsiskiestų iki kiekio, kurį galima įvesti
panaudojant konkretų norimą miltelių inhaliatorių;
palengvėtų preparato apdorojimas; pagerėtų preparato
miltelių savybės; padidėtų preparato stabilumas, pvz.,
panaudojant antioksidantus arba pH-koreguojančius
20 junginius; arba suteiktų preparatui skonį. Bet kuris iš
šių priedų privalo nedaryti neigiamo poveikio insulino
ar absorbcijos skatintojo stabilumui arba žalingai
paveikti insulino absorbciją. Jis turi būti stabilus,
neturi būti higroskopiškas, turėti geras miltelių
25 savybes, nedaryti nepalankių poveikių kvėpavimo takams.
Kaip potencialiai naudingus priedus galima paminėti
mono-, di- ir polisacharidus, cukrų alkoholius ir kitus
poliolius, pvz., laktozę, gliukozę, rafinozę,
melezitozę, laktitolį, maltitolį, trechaliozę, sacha-
30 rozę, manitolį ir krakmolą. Kaip redukuojantys cukrūs,
laktozė ir gliukozė, linkusios suformuoti su proteinais
kompleksus, neredukuojantys cukrūs, tokie kaip rafi-
nozė, melezitozė, laktitolis, maltitolis, trechaliozė,
sacharozė, manitolis ir krakmolai gali būti labiau
35 priimtini priedai šiam išradimui. Priklausomai nuo
naudojamo inhaliatoriaus bendras tokių priedų kiekis
gali kisti plačiose ribose. Tam tikromis aplinkybėmis

priedų reikia mažai ar iš viso nereikia, tuo tarpu inhaliatoriaus, kuriam veikti reikia didelio miltelių tūrio, atveju priedai gali sudaryti labai didelę preparato dalį. Reikalingą priedų kiekį lengvai gali
5 nustatyti patyręs šioje srityje asmuo, pasiremdamas konkrečiomis aplinkybėmis.

Patogus būdas įvesti miltelius į ligonio plaučius, tai panaudoti nešiojamą inhaliatorių, per kurį galima
10 inhaliuoti sausus miltelius. Daug tokių prietaisų, paprastai sukurtų įvesti priešastminius ir prieš- uždegiminius vaistus į kvėpavimo sistemą, jau yra rinkoje. Labiau priimtinas sausų miltelių inhaliatorius privalo turėti šias konstrukcijos ypatybes: turi
15 apsaugoti miltelius nuo drėgmės ir garantuoti, kad atsitiktinai nebūtų pateikta per didelė dozė; be to, būtų pageidautinos kaip galima daugiau iš šių savybių: apsaugoti miltelius nuo šviesos; turėti didelę įkvepiamą frakciją ir didelė dalis turi nusėsti plaučiuose,
20 esant plačiam srauto greičių intervalui; mažai nukrypti nuo dozės ir įkvepiamos frakcijos; išlaikyti mažą miltelių kiekį kandiklyje; turi būti maža adsorbcija inhaliatoriaus paviršiuose; turi turėti lankstumą pasirenkant dozės dydį; ir mažą pasipriešinimą įkvėpimui. Geriau kai inhaliatorius yra vienos dozės, nors daugelio dozių inhaliatoriai, pavyzdžiui, geriau daugelio dozių, daugkartinio vartojimo, sausų miltelių inhaliatorius, paleidžiamas įkvėpimu, gali taip pat
25 būti vartojamas. Geriau vartoti vienos dozės, vienkartinio vartojimo sausų miltelių inhaliatorių, paleidžiamą įkvėpimu.
30

Aprašytasis miltelių preparatas gali būti pagamintas keliais būdais naudojant standartines metodikas. Tam
35 tikrame proceso etape aktyviuosius junginius ir, jei tinka (t.y. kai nenumatomas sutvarkytas mišinys), bet kurių nešiklių gali reikėti susmulkinti iki mikroninių

dalelių, panaudojant tinkamus malūnus, pvz., čiurkšlinę trintuvę, kad gautųsi pirminės dalelės, kurių dydis patektų į diapazoną, užtikrinantį didžiausią nusėdimą žemesniuose kvėpavimo takuose (t.y. mažesnės už 10 μm).

5 Pavyzdžiui, galima sumaišyti sausus insulino ir skatintojo miltelius bei kur tinka nešiklį ir po to kartu medžiagas susmulkinti iki mikroninių dalelių; kitu atveju, medžiagos gali būti smulkinamos atskirai ir tada sumaišomos. Kai maišomi junginiai turi

10 skirtingas fizines savybes, pavyzdžiui, tvirtumą ir trapumą, atsparumas smulkinimui iki mikroninių dalelių skiriasi ir gali tekti panaudoti skirtingą slėgį skaldant juos iki tinkamo dalelių dydžio. Todėl, smulkinant drauge, vieno iš komponentų dalelių dydžiai

15 gali būti nepatenkinami. Tokiais atvejais būtų geriau skirtingus komponentus smulkinti atskirai ir po to juos sumaišyti.

Taip pat galima pirma sudedamąsias dalis, tame tarpe

20 jei nesiruošiama gauti sutvarkyto mišinio tai ir nešiklį, ištirpinti tinkamame tirpiklyje, pvz., vandenyje, kad susimaišytų molekuliniame lygyje. Ši procedūra taip pat leidžia suderinti pH reikšmę norimame lygyje. Žinoma, kad insulino absorbcija nosyje pri-

25 klauso nuo preparato pH reikšmės ir absorbcija didėja kai judama žemyn ar aukštyn nuo insulino izoelektrinio taško, kuris yra apie 5,5. Tačiau insulinas gali būti mažiau stabilus prie pH daug didesnių ar mažesnių už 5,5 ir, be to, reikia turėti omenyje farmaciškai pri-

30 imtinas ribas, nuo pH 3,0 iki 8,5 inhaliuojamiems produktams, kadangi produktai su pH už šių ribų gali sukelti kvėpavimo takų sudirginimą ir susitraukimą. Kad gautume miltelius, reikia pašalinti tirpiklį taip, kad būtų išlaikytas insulino biologinis aktyvumas. Tarp

35 tinkamų džiovinimo būdų yra vakuuminis išgarinimas, atviras džiovinimas, džiovinimas išpurškiant ir džiovinimas užšaldant. Bendru atveju, reiktų vengti tem-

peratūros virš 40°C ilgiau kaip kelias minutes, nes
insulinas tam tikra dalimi gali degraduoti. Po džio-
vinimo žingsnio, jei reikia, kietąją medžiagą galima
sutrinti iki rupių miltelių, po to, jei reikia,
5 susmulkinti iki mikroninių dalelių.

Jei reikia, susmulkinti iki mikroninių dalelių mil-
teliai gali būti apdoroti, kad pagerėtų takumo savybės,
pvz., sausi granuluoti, kad susiformuotų sferiniai
10 aglomeratai su geresnėmis operavimo jais savybėmis,
prieš jų idėjimą į numatytą inhaliatorių. Tokiais
atvejais, inhaliatorius turi būti taip sukonstruotas,
kad užtikrintų didžiosios aglomeratų dalies suskaidymą
prieš jiems išeinant iš prietaiso, kad didžioji dalelių
15 dalis, patenkanti į paciento kvėpavimo traktą, būtų
norimų dydžių diapazone.

Ten, kur reikalingas sutvarkytas mišinys, aktyvusis
junginys gali būti apdorotas, pvz., susmulkintas iki
20 mikroninių dalelių, tam, kad, jei reikia, gautųsi da-
lelės, turinčios dydžius tam tikrose ribose. Nešiklis
taip pat gali būti apdorotas, pvz., kad gautųsi norimas
dalelių dydis ir reikalingos paviršiaus savybės, kaip
antai konkretus paviršiaus ir svorio santykis arba tam
25 tikras šiurkštumas, ir būtų užtikrintos optimalios lip-
numo jėgos sutvarkytame mišinyje. Tokie fiziniai
reikalavimai sutvarkytiems mišiniams puikiai žinomi,
nes yra įvairiausių priemonių gauti sutvarkytus miši-
nius, patenkinančius minėtuosius reikalavimus, ir
30 įgudęs asmuo lengvai gali juos apibrėžti, įvertindamas
konkrečias aplinkybes.

Toliau išradimas bus aprašytas pavyzdžiais, kurie
skirti pailiustruoti, bet ne apriboti išradimo apimtį.

PAVYZDŽIAI

PALYGINAMASIS PAVYZDYS

5 **Terapinis insulino preparatas be skatintojo**

Pusiausintetinis žmogaus insulinas (Diosynth, 0,8 g) ir vanduo (150 ml) patalpinti į menzurą. pH buvo mažinamas su 1 M HCl iki pH 3,4 ir po to didinamas su 1 M NaOH
10 iki pH 7,4, kad insulinas ištirptų.

Buvo pridedama laktozė (gaunama komerciniu keliu, 9,2 g) ir vėl priderinamas pH iki 7,4. Tirpalas buvo maišomas, kol praskaidrėjo ir silpnai pakeitė spalvą, ir buvo džiovinamas
15 garinant prie 37°C temperatūros apytiksliai dvi dienas.

Gautos kietos nuosėdos buvo trupinamos ir sijojamos per 0,5 mm sieta bei gauti milteliai čiurkšlinėje trintuvėje susmulkinti iki mikroninių dalelių, turinčių
20 skersmenį apytiksliai 2 mikronus.

1 PAVYZDYS

25 **Terapinis insulino ir natrio kaprato preparatas; santykis 75:25**

Pusiausintetinis žmogaus insulinas (9,75 g) ir vanduo (250 ml) buvo patalpinti į menzurą. pH buvo mažinamas su 1 M HCl iki pH 3,4 ir po to didinamas su 1 M NaOH
30 iki pH 7,4, kad insulinas ištirptų.

Buvo pridedamas natrio kapratas (Sigma, 3,25 g) ir vėl priderinamas pH iki 7,4. Tirpalas buvo maišomas, kol praskaidrėjo ir silpnai pakeitė spalvą, ir buvo džiovinamas
35 garinant prie 37°C temperatūros apytiksliai dvi dienas.

Gautos kietos nuosėdos buvo trupinamos ir sijojamos per 0,5 mm sieta bei gauti milteliai čiurkšlinėje trintuvėje susmulkinti iki mikroninių dalelių, turinčių skersmenį apytiksliai 2 mikronus.

5

2 PAVYZDYS

Terapinis insulino ir natrio kaprato preparatas su laktoze; santykis 50:25:25

10

Pusiausintetinis žmogaus insulinas (7,5 g) buvo ištirpinamas vandenyje (150 ml) kaip 1 pavyzdyje. Buvo pridami natrio kapratas (3,75 g) ir laktozė (3,75 g) ir atliekama 1 pavyzdžio procedūra, kad gautųsi milteliai, didžiają dalimi sudaryti iš dalelių su skersmeniu apie 2 mikronus.

15

3 PAVYZDYS

Terapinis insulino ir natrio kaprato preparatas su laktoze; santykis 4:4:92

20

Buvo atliekama 2 pavyzdžio procedūra su 0,5 g pusiausintetinio žmogaus insulino, 150 ml vandens, 0,5 g natrio kaprato ir 11,5 g laktozės.

25

INHALIACIJŲ TYRIMAI

1 tyrimas

30

1 pavyzdžio preparatas buvo naudojamas inhaliacijų tyrimuose su dviem šunimis. Preparatu buvo užpildomas Wright Dust Feed inhaliatorius ir įvedamas šunims. Dozė buvo 1 U./kg (1 U. = vienas žmogaus insulino vienetas = 35 µg žmogaus insulino, 100%). Kraujo gliukozės ir plazmos insulino vertės buvo matuojamos įvairiais laiko intervalais ir rezultatai apibendrinti žemiau 1 ir 2 lentelėse.

35

I LENTELĖ

Kraujo mėginio paėmimo laikas po eksponavimo pabaigos (minutės)	Kraujo gliukozė (mmol/L)	Insulino koncentracija (μU/ml)
prieš	3,9	6,70
0,5	3,6	120,66
5	2,8	194,47
10	2,6	195,39
20	n.d	139,74
22,5	1,6	n.d
31	2,0	73,42
45	1,7	47,49
59,5	1,7	36,21
89,5	2,3	19,28
120	3,0	14,58
240	4,5	5,28

II LENTELĖ

Kraujo mėginio paėmimo laikas po eksponavimo pabaigos (minutės)	Kraujo gliukozė (mmol/L)	Insulino koncentracija (μU/ml)
prieš	3,9	44,84
3	4,2	165,10
6	4,3	158,28
12	3,9	n.d
14	n.d	180,72
19	3,0	133,75
30	2,7	143,71
45	2,5	91,62
60	2,4	66,70
90	2,7	38,58
122	3,7	29,15
241	4,1	n.d
242,5	n.d	19,76

n.d = nenustatyta

Lentelės rodo, kad insulino natrio kaprato preparatas žymiai padidina insulino lygį plazmoje ir sumažina gliukozę kraujyje. Didžiausia plazmos insulino reikšmė ir mažiausia kraujo gliukozės reikšmė buvo gautos po apytiksliai 15 ir 60 minučių, atitinkamai.

2 tyrimas

Palyginamojo pavyzdžio ir 1 pavyzdžio preparatai kiekvienas buvo įvestas keturiems ar penkiems šunims, panaudojant Wright Dust Feed inhaliatorių, pastoviomis 1 U./kg dozėmis. Kiekvieno preparato poveikis plazmos insulino ir kraujo gliukozės lygiams buvo matuojamas įvairiais laiko intervalais ir rezultatai pateikti Fig. 1 ir 2. Pastebėta, kad kontrolinis preparatas be skatintojo iš esmės nepakeitė plazmos insulino lygių, tuo tarpu preparatai, turintys tiek insuliną tiek ir skatintoją, pakėlė plazmos insulino lygius nuo apytiksliai 20 μ U/ml, esant nuliniam laikui, iki 80 μ U/ml praėjus 15 min. po miltelių inhaliacijų. Panašiai, kontroliniuose gyvūnuose buvo užregistruotas maksimalus kraujo gliukozės nukritimas 0,5 mmol/l po insulino inhaliacijų be skatintojo, tuo tarpu gyvūnuose, kurie inhaliavo insuliną su skatintoju, atiktas trumpalaikis nukritimas apie 1,7 mmol/l, nuo apytiksliai 4,0 mmol/l iki apytiksliai 2,3 mmol/l. Taigi insulinas, suderintas su skatintoju, natrio kapratu, greitai absorbuojasi į didįjį kraujo apytakos ratą ir greitai iš jo išsivalo, kartu su trumpalaikiu kraujo gliukozės lygio sumažėjimu. Priešingai, insulino su nešikliu (laktoze), bet be skatintojo, aptinkama absorbcija buvo labai žemo laipsnio ($p=0,0002$ insulinas/kapratas lyginant su insulinas/laktoze).

3 tyrimas

1-3 pavyzdžio preparatai buvo išbandyti prie įvairių
dozių su dviem šunimis. Preparatai buvo įvedami, pa-
naudojant Wright Dust Feed inhaliatorių. Plazmos
insulino ir kraujo gliukozės lygiai buvo matuojami
įvairiais laiko intervalais po inhaliacijų. Rezultatai
pateikti Fig. 3-6 ir rodo, kad insulinas, suderintas su
natrio kapratu įvairiomis proporcijomis, greitai
absorbuojasi ir didžiausia vertė gaunama po 20-30 mi-
nučių, po to seka atitinkamas kraujo gliukozės lygio
kritimas. Rezultatai taip pat rodo, kad inhaliuojant
insulino miltelius galima gauti plazmos profilį, kuris
labiau panašus į natūralų fiziologinį profilį, negu
profilis, gaunamas po insulino išvirkštimo po oda.

4 PAVYZDYS

Insulinas ir natrio kapratas, 75:25; miltelių, susmul- kintų iki mikroninių dalelių sumaišymas

Biosintetintas žmogaus insulinas (53 g) buvo smul-
kinamas iki mikroninių dalelių Airfilco čiurkšlinėje
trintuvėje (Firmos ženklas, Airfilco Process Plant Li-
mited), su suslėgtu azotu (padavimo slėgis 7 barai,
slėgis inde 5 barai) kol pasiekta 2,4 mikrometrų skers-
mens mediana.

Natrio kapratas (170 g) buvo susmulkintas iki mikro-
ninių dalelių Airfilco čiurkšlinėje trintuvėje (TM), su
suslėgtu azotu (padavimo slėgis 5 barai, slėgis inde
3 barai) kol pasiekta 1,6 mikrometrų skersmens mediana.

Susmulkintas iki mikroninių dalelių biosintetintas
žmogaus insulinas (45 g) ir natrio kapratas (14,26 g)
buvo sumaišyti sausi, pagal šią procedūrą. Pusė insu-
lino buvo įvedama į maišymo įrenginį, sudarytą iš

- maišymo cilindro, turinčio 4,4 litrų tūrį, padalinto 1 mm pločio sietu į dvi dalis ir kiekvienoje dalyje turinčio po metalinį žiedą, skirtą maišymui. Sudedamas natrio kapratas ir galiausiai likęs insulinas. Maišymo cilindras uždaromas, pasukamas 180 laipsnių ir užmaunamas ant kratymo aparato su motoru. Motoras įjungiamas ir kratoma apytiksliai dvi minutes, kol visas insulinas ir natrio kapratas praeina pro sieta. Motoras išjungiamas ir maišymo cilindras pasukamas 180 laipsnių, vėl užmaunamas ant kratymo aparato bei vėl kratomas kol visi milteliai praeina pro sieta. Ši procedūra buvo kartojama toliau aštuonis kartus, kad viso būtų maišoma apie 20 minučių.
- 15 Taip gautas preparatas buvo įvedamas 5 šunims inhaliuojant, panaudojant Wright Dust Feed inhaliatorių, dozė 1 U/kg, ir buvo nustatomas plazmos insulino kiekis įvairiais laiko momentais po įvedimo.
- 20 Gauti rezultatai buvo palyginti su plazmos insulino lygiais, gautais kai biosintetintas insulinas, susmulkintas iki 2,4 mikrometrų skersmens medianos, kaip aprašyta aukščiau, buvo įvestas penkiems šunims tuo pačiu būdu ir tomis pačiomis dozėmis, bei su plazmos
- 25 insulino lygiais, gautais kai terapinis insulino ir natrio kaprato, su santykiu 90:10, preparatas buvo įvestas penkiems šunims tuo pačiu būdu ir tomis pačiomis dozėmis, kaip aukščiau. Šiuo atveju terapinis preparatas buvo paruoštas taip. Buvo atlikta gelio
- 30 filtracija su žmogaus pusiausintetiniu insulinu, kad sumažėtų cinko kiekis nuo 0,52% iki 0,01% lyginant su insulino kiekiu. Insulinas (4,5 g) ir natrio kapratas (0,5 g) buvo ištirpinti vandenyje (232 ml). Tirpalas buvo maišomas sukant, kol pasidarė skaidrus ir pH buvo
- 35 privestas iki 7,0. Tirpalas buvo koncentruojamas, gaminant prie 37°C apytiksliai dvi dienas. Gautos kietos nuosėdos buvo sutrupintos ir persijotos pro 0,5 mm

sieta, bei gauti milteliai susmulkinti čiurkšlinėje trintuvėje iki dalelių, kurių skersmens mediana lygi 3,1 mikronui.

5 Šių palyginimų rezultatai pateikti Fig. 9. Rezultatai parodė tam tikrą insulino įsisavinimo pagerėjimą 90:10 preparato atveju ir labai ryškų insulino įsisavinimo pagerėjimą 75:25 preparato, pagal šį išradimą, atveju, lyginant su vienu insulinu. ($p=0,0147$ skirtumui tam
10 75:25 ir 100:0).

5 PAVYZDYS

Skatintojų parinkimas

15 Buvo išbandytas kiekvieno III lentelėje pateikto junginio sugebėjimas pagerinti insulino įsiurbimą, ir tuo būdu paveikti kraujo gliukozės lygį, žiurkės modelyje. Buvo panaudotos įvairios insulino formos: žmogaus re-
20 kombinantinė arba žmogaus pusiausintetinė arba jaučio. Kiekvienas preparatas buvo paruošiamas kaip aprašyta aukščiau 1-3 pavyzdžiuose, džiovinant ir apdorojant insulino/skatintojo tirpalą, kad gautųsi milteliai, tinkami inhaliacijoms.

25 Milteliai buvo įvedami žiurkėms per inhaliacijas ir toliau žiurkių kraujyje buvo stebimi gliukozės lygiai, kaip įsisavinto insulino matas. Šie lygiai buvo palyginti su atitinkamomis vertėmis, gautomis iš žiur-
30 kių, kurios inhaliavo insulino preparatus be skatintojo.

III LENTELĖ

Medžiaga	Skatintojas:Insulinas: laktozė	Efektas
Oktilgliukopiranozidas	4:4:92	(+)
Natrio ursodezoksicholatas	4:4:92	+
Natrio taurocholatas	4:4:92	+
Natrio glikocholatas	4:4:92	+
Lizofosfatidilcholinas	4:4:92	+
Dioktanoilfosfatidilcholinas	2:4:94	(+)
Didekanoilfosfatidilcholinas	4:4:94	-
Natrio taurodihidrofuzidatas	2:4:94	+
Natrio kaprilatas	25:75:0	-
Natrio kapratas	10:90:0	(+)
Natrio kapratas	17,5:82,5:0	(+)
Natrio kapratas	25:75:0	+
Natrio kapratas	4:4:92	+
Natrio lauratas	25:75:0	(+)
Kalio oleatas	4:4:92	+
Kalio kapratas	27:73:0	+
Lizino kapratas	35:65:0	+
Natrio miristatas	30:70:0	+
Dimetil-β-ciklodekstrinas	75:25:0	+

- + efektas, t.y., skatintojas duoda žymų gliukozės kiekio sumažėjimą kraujyje
 - nėra arba labai mažas efektas
 (+) efektas, ne toks žymus kaip „+“

6 PAVYZDYS

5

Skatintojų parinkimas

Buvo sukurtas standartinis in vitro bandymas su epi-
 telinių ląstelių linija, CaCo-2 (ją galima gauti iš
 American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD,
 JAV), kad būtų galima įvertinti įvairių skatinančių

10

junginių sugebėjimus, skatinti žymėtųjų medžiagų transportą per epitelinių ląstelių monosluoksnį, kuris yra epitelinių ląstelių sluoksnio, esančio plaučiuose ir skiriančio alveoles nuo plaučių kraujo apytakos indų, modelis. Šiame bandyme įvairios skatintojo ir insulino ar kitos žymėtos medžiagos proporcijos ir/arba koncentracijos ištirpinamos vandeniniame tirpale, ir užnešamos ant apikalinės ląstelių monosluoksnio pusės. Po 60 min. inkubacijos prie 37°C ir 95% SD (santykinės drėgmės) nustatomas žymėtosios medžiagos kiekis ląstelių bazolateralinėje pusėje, pvz., panaudojant medžiagą su radioktyviaja žyme.

Tiriant konkretų skatintoją (natrio kapratą) eksperimentuose, parodytuose Fig. 5 ir 6, žymėtosios medžiagos (manitolis, MS 360) kiekis, kuris pasirodo bazolateralinėje pusėje, priklauso nuo panaudoto skatintojo koncentracijos, bent jau iki 16 mM natrio kaprato (Fig. 7). Tai galioja net jei prie skatintojo/manitolio mišinio pridedamas insulinas, (1:3 natrio kapratas: insulinas, pagal svorį) (Fig. 8). Taip pat buvo pastebėta, kad ši natrio kaprato koncentracija (16 mM) skatina insulino absorbciją pro ląstelių monosluoksnį. Insulino kiekis, kuris praeina pro monosluoksnį, padvigubėja, kai pridedama 16 mM natrio kaprato, lyginant su kiekiu be jokio skatintojo. Manoma, kad prie didesnių natrio kaprato koncentracijų ląstelių pralaidumas dar labiau padidėtų; tačiau potencialus natrio kaprato citotoksiškumas gali neleisti panaudoti žymiai didesnes šio konkretaus skatintojo koncentracijas.

Šis epitelinių ląstelių pralaidumo in vitro modelis gali būti vartojamas kaip greita patikrinimo priemonė, išbandant ar šio išradimo būdams tinka norimas skatintojas.

IŠRADIMO APRAŽYMAS

1. Terapinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad turi mišini aktyviųjų junginių (A) insulino ir
5 (B) medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją pa-
ciento žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, sausų milte-
lių, tinkančių inhaliacijoms, pavidale, kuriame bent
jau 50% visos aktyviųjų junginių masės susideda iš (a) pir-
minių dalelių, turinčių skersmenį iki 10 mikronų, arba
10 (b) tokių dalelių aglomeratų.

2. Terapinis preparatas pagal 1 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad jis sudarytas tik iš minėtųjų
aktyviųjų junginių.

3. Terapinis preparatas pagal 1 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad sausi milteliai be minėtųjų
aktyviųjų junginių papildomai turi farmaciškai pri-
imtina nešiklį.

4. Terapinis preparatas pagal 3 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad minėtasis nešiklis sudarytas iš
dalelių, turinčių skersmenį iki 10 mikronų, taip, kad
bent 50% minėtųjų sausų miltelių susideda iš (a) da-
25 lelių, turinčių skersmenį iki 10 mikronų, arba (b) to-
kių dalelių aglomeratų.

5. Terapinis preparatas pagal 3 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad minėtasis nešiklis sudarytas iš
30 stambesnių dalelių taip, kad gali būti suformuotas
sutvarkytas mišinys tarp minėtųjų aktyviųjų junginių ir
nešiklio.

6. Terapinis preparatas pagal 4 punktą, b e s i s k i -
35 r i a n t i s tuo, kad bent 50% sausų miltelių
susideda iš (a) dalelių, turinčių skersmenį tarp 1 ir 6 mi-
kronų, arba (b) tokių dalelių aglomeratų.

7. Terapinis preparatas pagal 1 arba 5 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad bent 50% visos
aktyviųjų junginių (A) ir (B) masės susideda iš dale-
lių, turinčių skersmenį tarp 1 ir 6 mikronų.
5
8. Terapinis preparatas pagal 1 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad insulinas yra jaučio, kiaulės,
biosintetinis ar pusiausintetinis žmogaus insulinas,
arba biologiškai aktyvus žmogaus insulino darinys.
10
9. Terapinis preparatas pagal 8 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad insulinas yra pusiausintetinis
žmogaus insulinas.
- 15 10. Terapinis preparatas pagal 8 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad insulinas yra
biosintetinis žmogaus insulinas.
- 20 11. Terapinis insulino preparatas pagal 1 punktą, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
takuose, yra medžiaga, kuri skatina insulino absorbciją
pro epitelinių ląstelių sluoksnį žemesniuosiuose kvė-
pavimo takuose į gretimus plaučių kraujo apytakos
25 indus.
- 30 12. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
takuose, yra paviršiaus aktyvioji medžiaga.
- 35 13. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
takuose, yra anijoninė paviršiaus aktyvioji medžiaga.

14. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
5 takuose, yra tulžies druska arba tulžies druskos da-
rinys.

15. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
10 takuose, yra fosfolipidas.

16. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
15 takuose, yra alkilo glikozidas.

17. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
20 takuose, yra ciklodekstrinas arba jo darinys.

18. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
25 takuose, yra riebiosios rūgšties druska.

19. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
30 takuose, yra kaprino rūgšties druska.

20. Terapinis preparatas pagal 11 punktą, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad minėtoji medžiaga, kuri
pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo
35 takuose, yra natrio kapratas.

21. Terapinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad sudarytas iš aktyviųjų junginių (A) insulino
ir (B) natrio kaprato, esant preparatui sausų miltelių,
tinkančių inhaliacijoms pavidale, kuriame bent jau 50%
5 visos aktyviųjų junginių (A) ir (B) masės susideda iš
(a) pirminių dalelių, turinčių skersmenį, mažesnę už
10 mikronų, arba (b) tokių dalelių aglomeratų.
22. Terapinis preparatas pagal 21 punktą, b e s i -
10 s k i r i a n t i s tuo, kad jis sudarytas tik iš
minėtųjų aktyviųjų junginių.
23. Terapinis preparatas pagal 21 punktą, b e s i -
15 s k i r i a n t i s tuo, kad sausi milteliai be
minėtųjų aktyviųjų junginių papildomai turi farmaciškai
priimtina nešiklį.
24. Terapinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad sudarytas iš insulino, natrio kaprato ir
20 farmaciškai priimtino nešiklio, esant preparatui sausų
miltelių, tinkančių inhaliacijoms pavidale, kuriame
bent 50% masės susideda iš (a) dalelių, turinčių
skersmenį, mažesnę už 10 mikronų, arba (b) minėtųjų
dalelių aglomeratų.
25
25. Terapinis preparatas, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad sudarytas iš aktyviųjų junginių (A) insulino
ir (B) natrio kaprato, kad bent jau 50% visos aktyviųjų
junginių (A) ir (B) masės susideda iš dalelių, turinčių
30 skersmenį, mažesnę už 10 mikronų, ir farmaciškai pri-
imto nešiklio, esant preparatui sausų miltelių, tin-
kančių inhaliacijoms, pavidale, kuriame sutvarkytas
mišinys gali būti suformuotas tarp aktyviųjų junginių
ir farmaciškai priimtino nešiklio.
35
26. Terapinis preparatas pagal 1 arba 21 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad insulino ir

skatintojo santykis minėtajame preparate yra ribose nuo 9:1 iki 1:1.

5 27. Terapinis preparatas pagal 1 arba 21 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtasis santykis
yra ribose nuo 5:1 iki 2:1.

10 28. Terapinis preparatas pagal 1 arba 21 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtasis santykis
yra ribose nuo 4:1 iki 3:1.

15 29. Terapinis preparatas pagal 3 arba 23 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtasis priedas
išrenkamas iš mono-, di- ir polisacharidų, cukrų alko-
holių bei kitų poliolių.

20 30. Terapinis preparatas pagal 3 arba 23 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtasis priedas yra
neredukuojantis cukrus.

25 31. Terapinis preparatas pagal 3 arba 23 punktus, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtasis priedas yra
rafinozė, melezitozė, laktitolis, maltitolis, trec-
haliozė, sacharozė, manitolis arba krakmolos.

32. Terapinio preparato pagal 1 arba 21 punktus pa-
naudojimas inhaliatoriuje.

30 33. Panaudojimas pagal 32 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad inhaliatorius apsaugo
miltelius, skirtus inhaliacijoms, nuo drėgmės ir turi
minimalią perdozavimo riziką.

35 34. Panaudojimas pagal 32 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad inhaliatorius yra vienos dozės,
vienkartinio vartojimo, sausų miltelių inhaliatorius,
paleidžiamas įkvėpimu.

35. Panaudojimas pagal 32 punktą, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad inhaliatorius yra daugelio
dozių, daugkartinio vartojimo, sausų miltelių inhalia-
torius, paleidžiamas įkvėpimu.
- 5
36. Sausų miltelių inhaliatorius, b e s i s k i -
r i a n t i s tuo, kad turi 1 arba 21 punktų terapinį
preparatą.
- 10
37. Vienos dozės, vienkartinio vartojimo, sausų mil-
telių inhaliatorius, paleidžiamas įkvėpimu, b e s i -
s k i r i a n t i s tuo, kad turi terapinį preparatą,
skirtą inhaliacijoms, sudarytą iš aktyviųjų junginių
(A) insulino ir (B) natrio kaprato, bei esanti sausų
15 miltelių pavidale, kuriame bent jau 50% visos aktyviųjų
junginių, (A) ir (B), masės susideda iš dalelių, turin-
čių skersmenį iki 10 mikronų.
- 20
38. Terapinio insulino preparato gavimo būdas, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad paruošia insulino ir
medžiagos, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuose
kvėpavimo takuose tirpalą, išgarinant ar kitaip
pašalina tirpiklį, kad gautų kietą masę, ir pasi-
rinktinai sumala ir/arba sumaišo minėtąją kietą masę,
25 kad gautų miltelius, kurių bent jau 50% susidėtų iš da-
lelių, turinčių skersmenį iki 10 mikronų.
- 30
39. Būdas pagal 38 punktą, b e s i s k i r i a n t i s
tuo, kad be minėtosios medžiagos, kuri pagerina ab-
sorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, papildomai
prideda farmaciškai priimtino nešiklio.
- 35
40. Terapinio insulino preparato gamybos būdas, b e -
s i s k i r i a n t i s tuo, kad sumaišo kartu sausus
insuliną su medžiaga, kuri pagerina insulino absorbciją
žemesniuose kvėpavimo takuose, ir pasirinktinai su-
mala ir/arba sumaišo minėtąją kietą masę, kad gautų

miltelius, kurių bent jau 50% susidėtų iš dalelių, turinčių skersmenį iki 10 mikronų.

5 41. Būdas pagal 40 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad sumaišo sausą farmaciškai priimtina nešiklį kartu su insulinu ir medžiaga, kuri pagerina insulino absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo takuose.

10 42. Būdas pagal 38 arba 40 punktus, b e s i s k i - r i a n t i s tuo, kad papildomai preparatą smulkina iki mikroninių dalelių.

15 43. Būdas pagal 39 arba 41 punktus, b e s i s k i - r i a n t i s tuo, kad papildomai sumaišo minėtų miltelių pareikštą mišinį su farmaciškai priimtinu nešikliu.

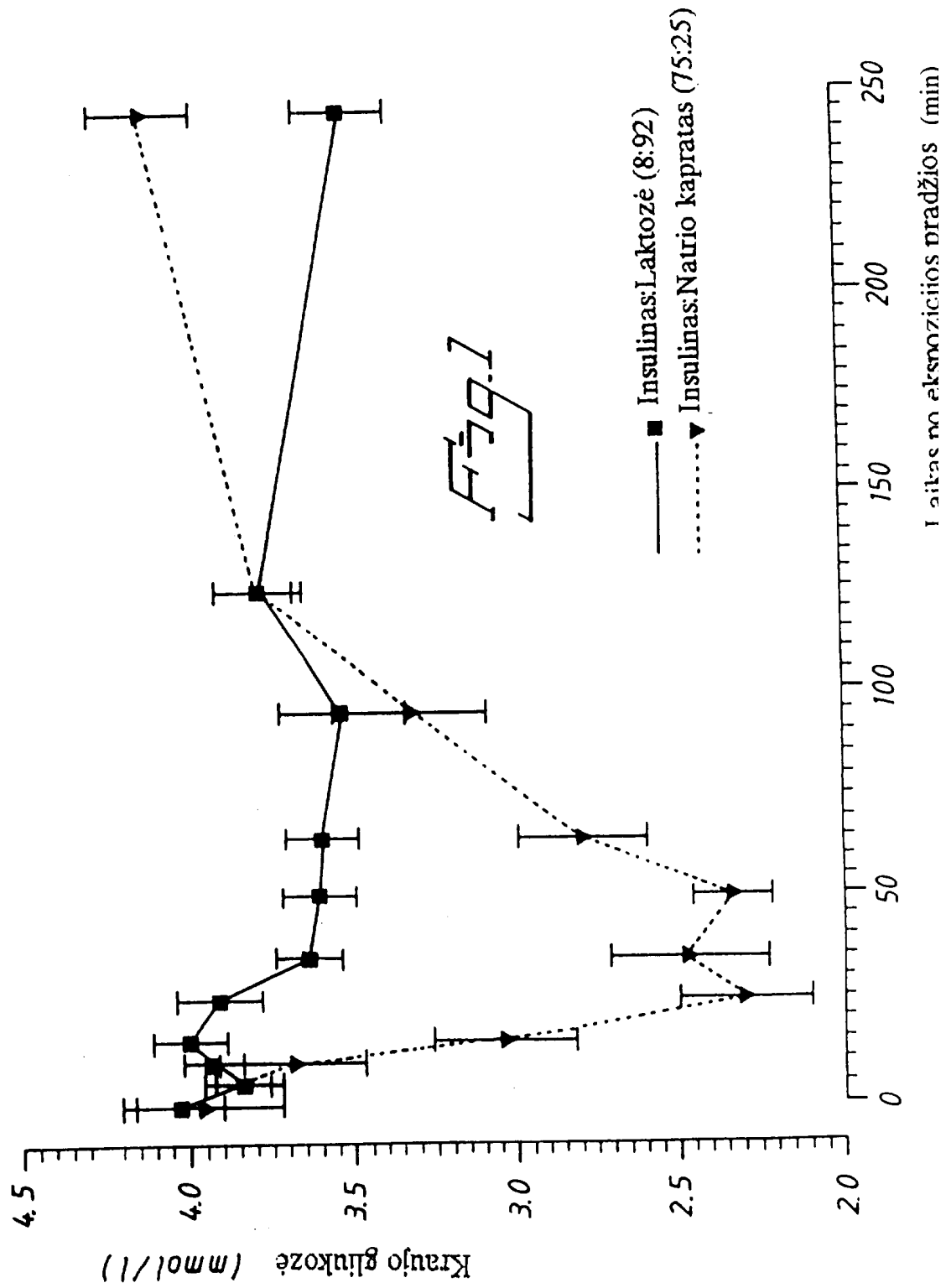
20 44. Skatintojo panaudojimas, ruošiant insulino inhaliuojamų sausų miltelių preparatą, su pagerinta sistetine insulino absorbcija žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, kada bent 50% visos insulino ir skatintojo masės susideda iš (1) dalelių, turinčių skersmenį 10 mikronų arba mažiau, arba (2) minėtųjų dalelių aglomeratų.

25 45. Panaudojimas pagal 44 punktą, b e s i s k i - r i a n t i s tuo, kad jame skatintojas yra paviršiaus aktyvioji medžiaga.

30 46. Panaudojimas pagal 44 punktą, b e s i s k i - r i a n t i s tuo, kad jame skatintojas yra riebiosios rūgšties druska.

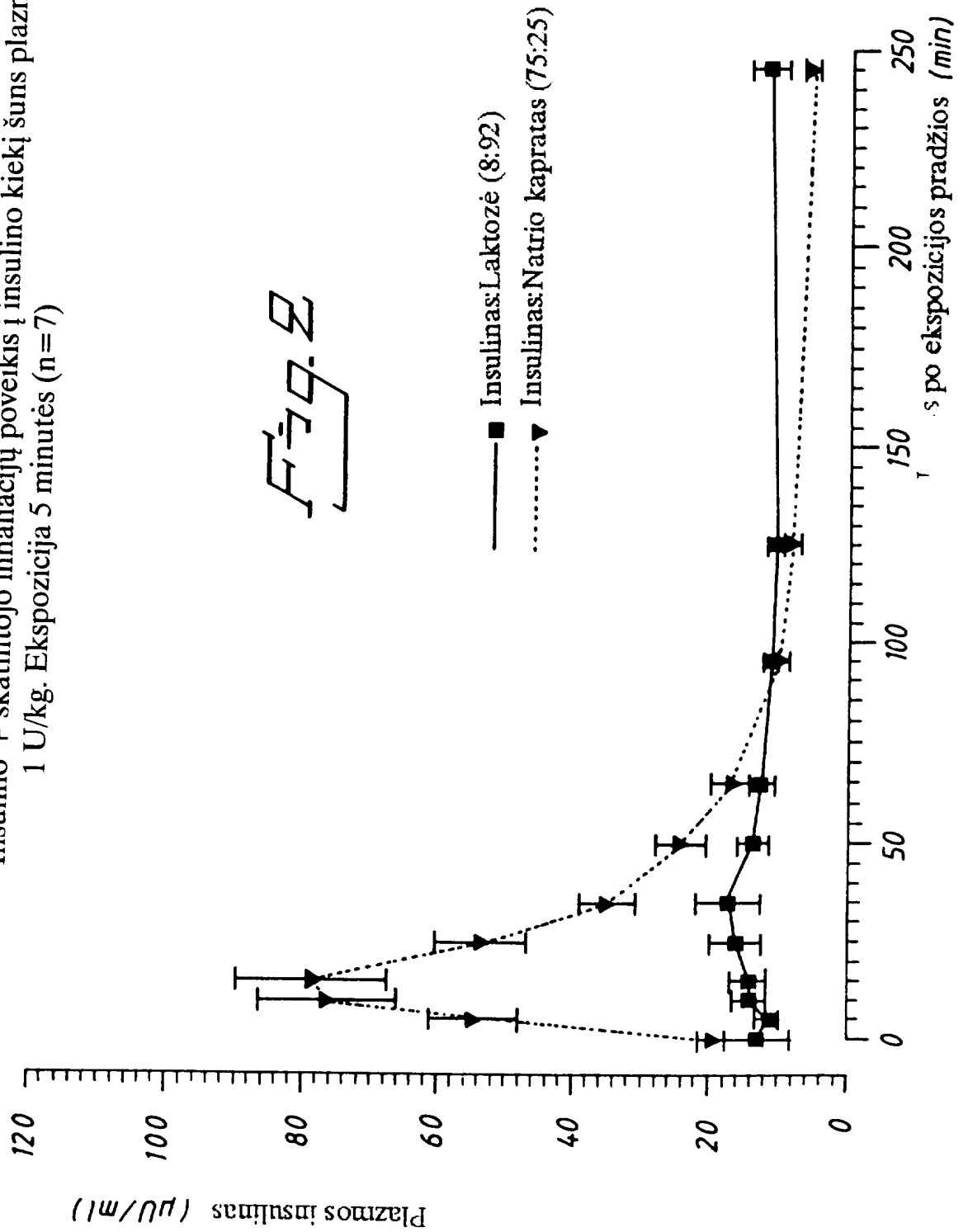
35 47. Panaudojimas pagal 44 punktą, b e s i s k i - r i a n t i s tuo, kad jame skatintojas yra natrio kapratas.

Insulino + skatintojo inhaliacijų poveikis į gliukozės kiekį šuns kraujyje
1 U/kg. Ekspozicija 5 minutės (n=7)

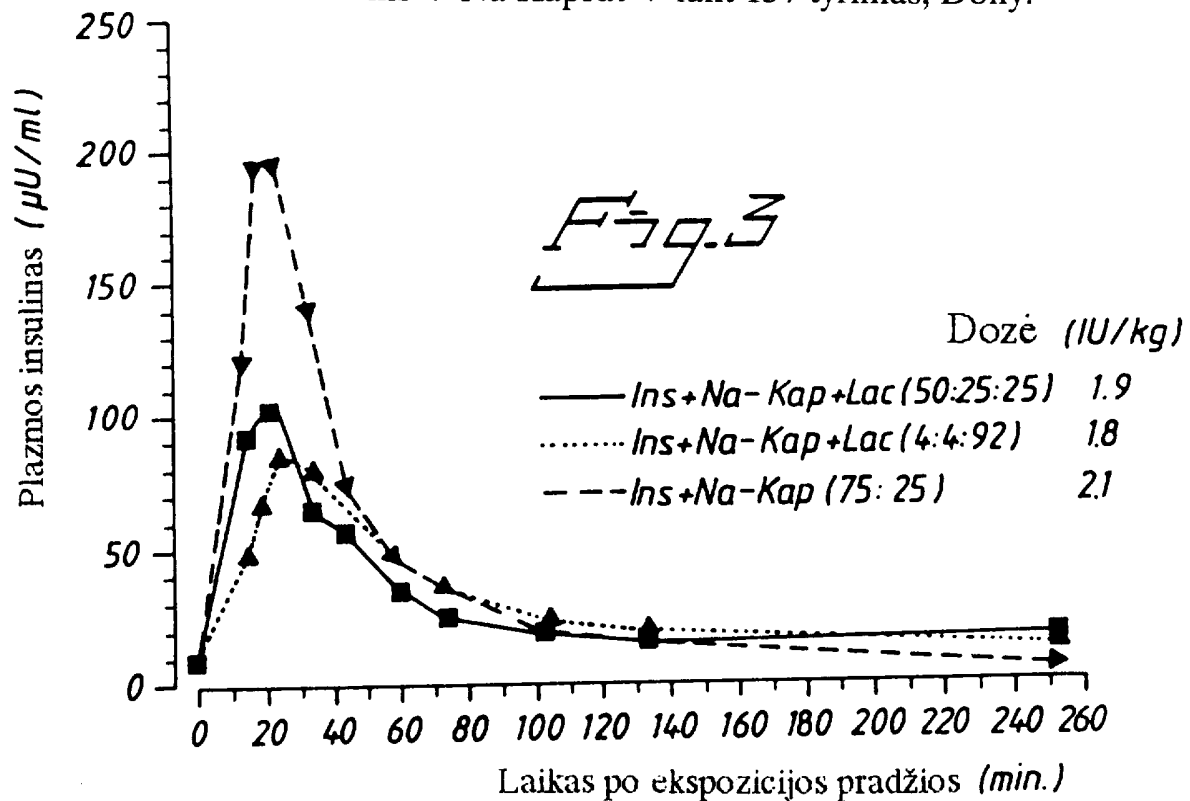


Insulino + skatintojo inhaliacijų poveikis į insulino kiekį šuns plazmoje
1 U/kg. Ekspozicija 5 minutės (n=7)

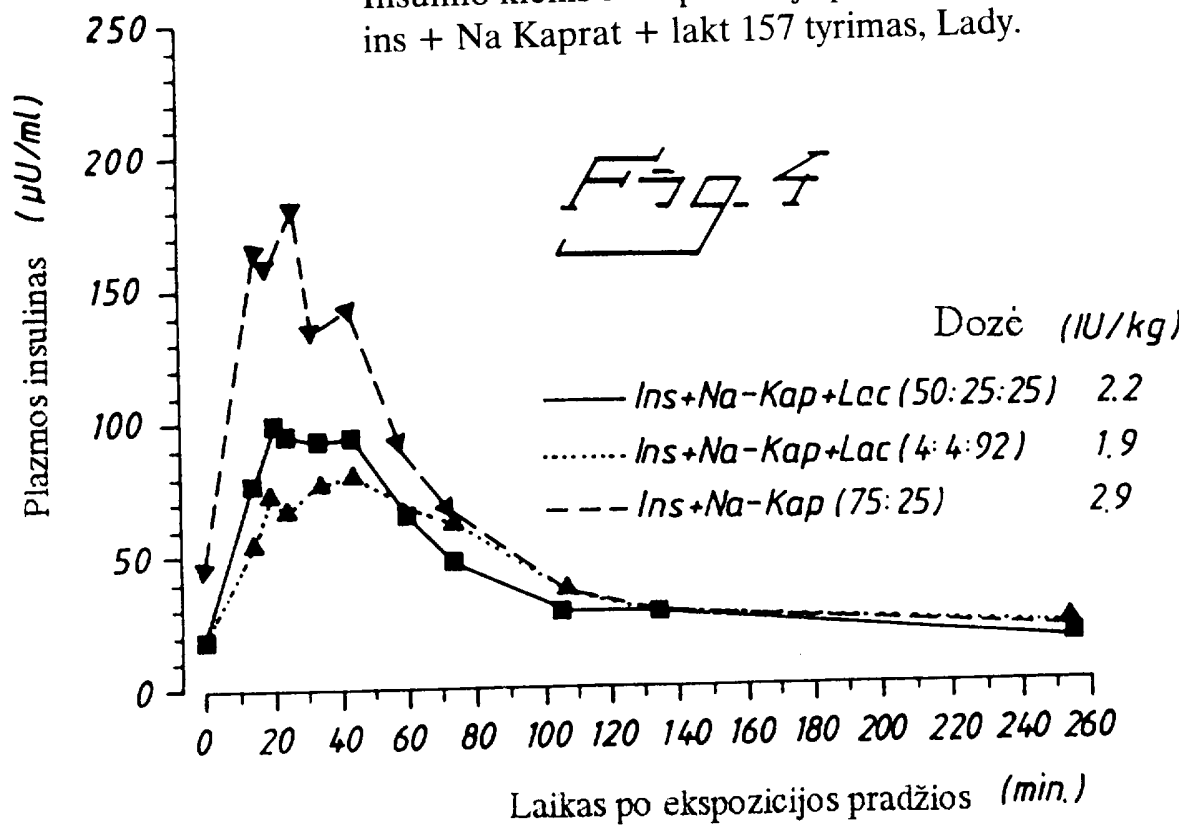
Fig. 2



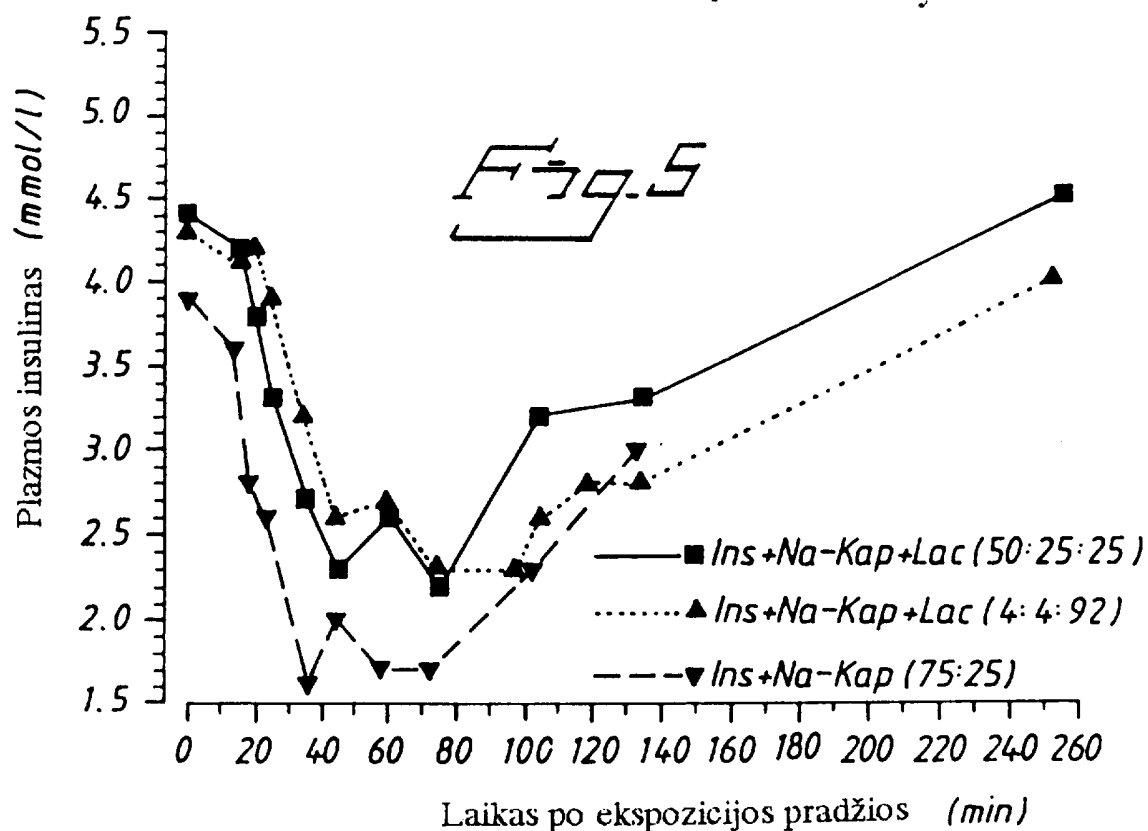
Insulino kiekis šuns plazmoje po inhaliacijų su
ins + Na Kaprat + lakt 157 tyrimas, Dolly.



Insulino kiekis šuns plazmoje po inhaliacijų su
ins + Na Kaprat + lakt 157 tyrimas, Lady.



Insulino + Na Kaprato + laktozės poveikis į kraujo gliukozę. 157 tyrimas, Dolly.



Insulino + Na Kaprato + laktozės poveikis į kraujo gliukozę. 157 tyrimas, Lady.

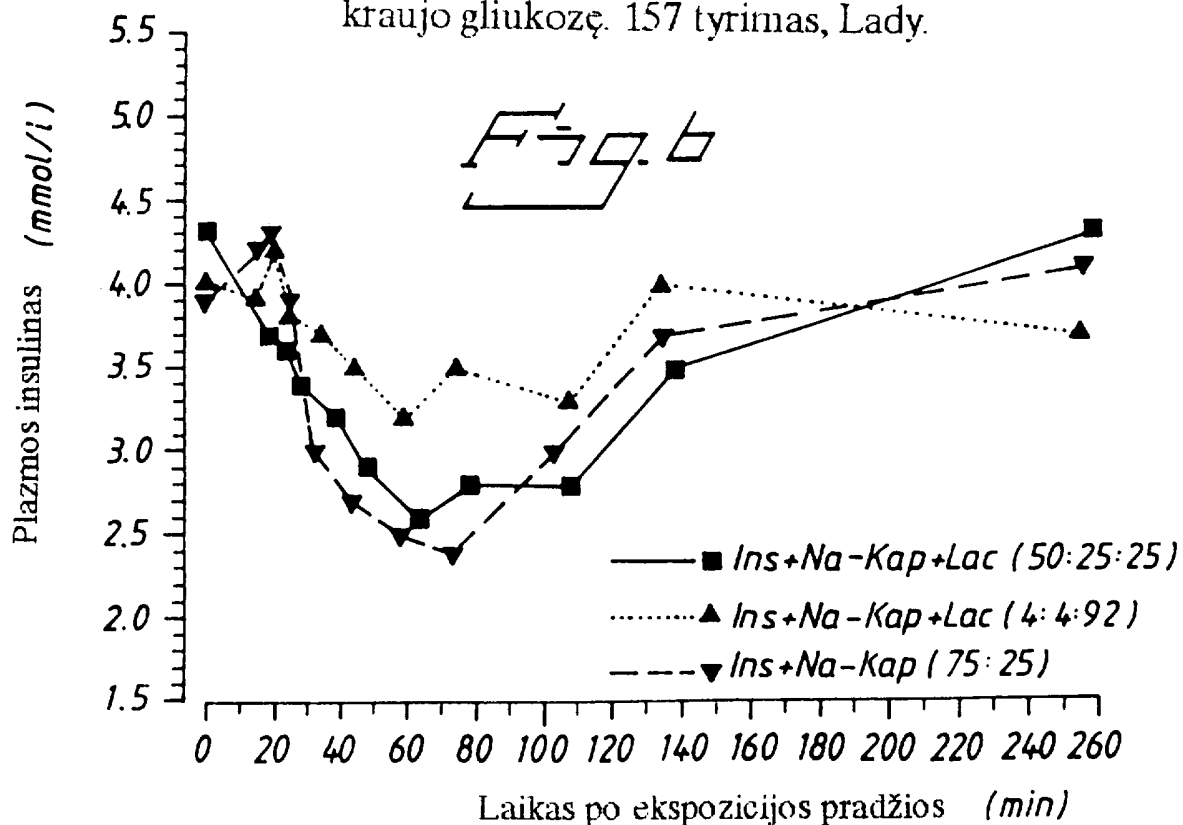


Fig. 7

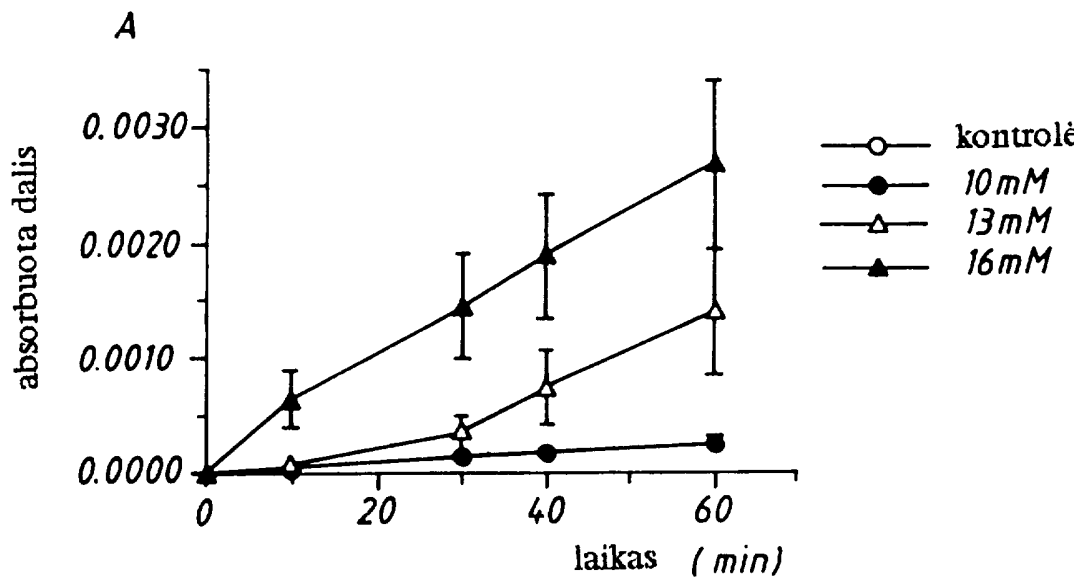
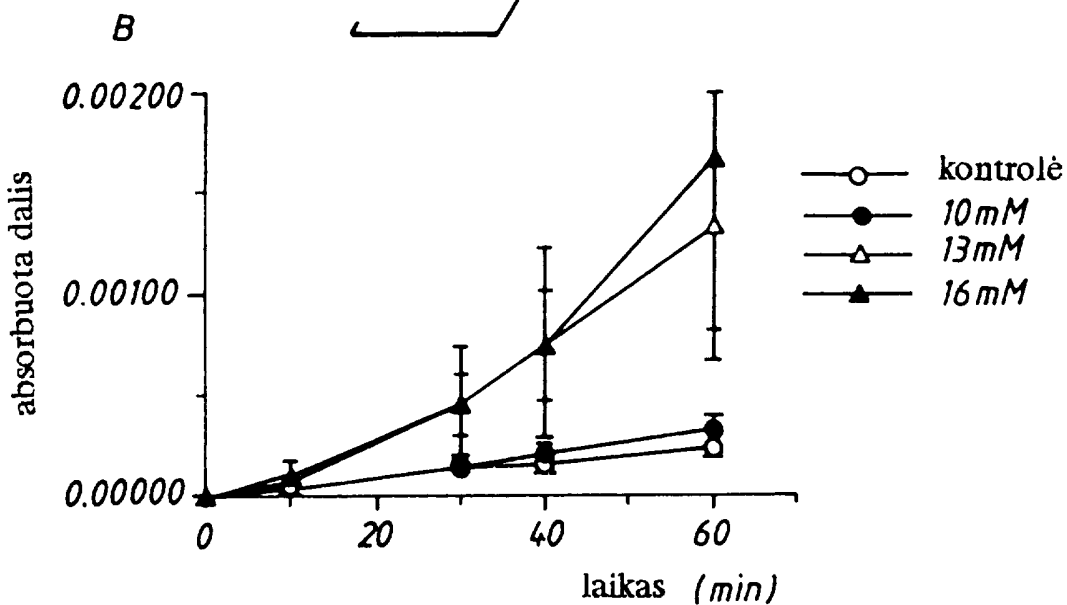


Fig. 8



Manitolio transportas per Caco-2 monosluoksni,
esant Na kapratui (10-16 mM)

A. Na kapratas

B. Na kapratas/insulinas (1:3 svoris/svoris)

Insulino koncentracija po 5 min inhaliacijų 1 U/kg.
Vidurkių reikšmės $\pm$ s e m (n=5)

