

(19)



(10) **LT 3649 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **3649**

(51) Int. Cl.⁵: **A61K 9/72**

(21) Paraiškos numeris: **IP1976**

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

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 05 25**

(45) Patento paskelbimo data: **1996 01 25**

(31, 32, 33) Prioritetas: **9302198, 1993 06 24, SE**
9400371, 1994 02 04, SE

(72) Išradėjas:

Kjell Goran Erik Backstrom, 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:

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

(54) Pavadinimas:

Kompozicijos inhaliacijoms, jų gavimo būdas ir panaudojimas, bei
inhaliatorius

(57) Referatas:

Farmacinė kompozicija, turinti mišinį iš farmaciškai aktyvaus polipeptido ir skatinančiojo junginio, kuris pagerina sisteminę polipeptido absorbciją paciento plaučiuose, mišinys yra sausų miltelių pavidale, kuriame bent 50% visos polipeptido ir skatintojo masės sudaryta iš pirminių dalelių, kurių skersmuo mažesnis arba lygus apytikriai 10 mikronų, pasirinktinai pirminės dalelės gali sudaryti aglomeratus; ir būdai šioms kompozicijoms įvesti inhaliuojant.

Išradimas priklauso medicinos sričiai ir yra susijęs su kompozicijomis ir būdais, skirtais įvesti peptidus ir proteinus, turinčius medicininę vertę.

Nors rekombinantinių DNR technologijos atradimas sukėlė greitą pagrįstų peptidais vaistų sąrašo išsiplėtimą, pagrindinis peptidais besiremiančios terapijos trūkumas, labai trukdė pilnai išnaudoti šios srities potencialą: bendru atveju, veiklios dozės vaistų, pagrįstų peptidais, negalima įvesti per burną, kadangi juos labai greitai suskaldo virškinimo trakto fermentai, prieš jiems pasiekiant kraują. Jei dominantis polipeptidas negali būti pakeistas taip, kad taptų santykinai atsparus šiems fermentams, tai vienintelis tinkamas praktinis vaistų įvedimo būdas yra parenteralinis kelias, kaip antai įšvirkštimas į veną, raumenis arba po oda.

Yra žinomas vaistų įvedimas, pavyzdžiui, absorbuojant per nosies membranas, naudojant kompoziciją savo sudėtyje turinčią ergopeptidų alkaloidus, ištirpintus vandeningame etanole ir naudojamą kaip aerosolis (žr. Šveicarijos patentą Nr. 636011).

Yra žinoma, kad mažesnių išmatavimų kai kurie polipeptidai gali efektyviai absorbuotis per nosies gleivinę (žr. apžvalgą L. Illume, *Archiv for Pharmacology and Chemistry*, t. 94 (1987) psl. 127-135).

Tačiau didesnių išmatavimų polipeptidai per nosį absorbuojasi nepilnai ir šis procesas yra nestabilus.

Buvo pastebėta, kad sumaišius peptidą ar proteiną (toliau bendrai vadinamus polipeptidais) su atitinkamu absorbcijos skatintoju ir įvedus į plaučius miltelių pavidale, esant tam tikro dydžio dalelėms, jis lengvai pasiekia plaučių kraujotaką, absorbuodamasis pro apatinių kvėpavimo takų epitelinių ląstelių sluoksnį. Tai patogu atlikti inhaliuojant miltelius per inhaliatorių, kuris paruošia teisingas dozes polipeptido/skatintojo, miltelių pavidale su dalelių dydžiais, kurie užtikrina didžiausią nusėdimą žemesniuose kvėpavimo takuose, o ne burnoje ar gerklėje. (Kad supaprastinti nuorodas, polipeptidą ir skatintoją toliau bendrai vadinsime „aktyviaisiais junginiais“). Kaip galima didesnis kiekis aktyviųjų junginių turi būti sudarytas iš dalelių, turinčių spindulį apytiksliai ne didesnę už 10 μm (pvz., tarp 0,01 ir 10 μm , idealu tarp 1 ir 6 μm), kad didžioji dalis būtų įvedama į plaučius. Labiau priimtiniuose įgyvendinimuose bent 50% (geriau bent 60%, dar geriau bent 70%, dar geriau bent 80% ir geriausia bent 90%) visos masės aktyviųjų junginių, esančios inhaliatoriuje, susideda iš dalelių, kurių skersmuo priklauso norimam diapazonui.

Taigi išradimas apima farmacinę kompoziciją, turinčią aktyviuosius junginius (A) farmaciškai aktyvų polipeptidą ir (B) skatinantįjį junginį, kuris pagerina polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniojoje kvėpavimo sistemoje (geriau plaučiuose), kai jų mišinys yra sausų miltelių, tinkamų inhaliacijoms, pavidale ir bent 50% visos aktyviųjų junginių, (A) ir (B), masės sudaro pirminės dalelės, kurių skersmuo mažesnis arba lygus 10 mikronų. Pirminės dalelės gali būti sudedamos tokios kaip yra ar gali sudaryti aglomeratus, kurie po to žymia dalimi suskaidomi prieš jiems patenkant į paciento kvėpavimo traktą. Aišku, jei reikia, kompozicija gali turėti ir kitus ingredientus, tame tarpe kitas farmakologiškai aktyvias medžiagas, kitus skatintojus ir farmakologiškai priimtinius ekscipientus, tokius kaip skiedikliai ar nešikliai. Taigi terapinis preparatas, pagal šį išradimą, gali turėti tik minėtuosius aktyviuosius junginius arba jis gali turėti kitas medžiagas, kaip antai farmaciškai 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, sudaryti iš pasirinktinai aglomeruotų pirminių dalelių, kurių skersmuo mažesnis už apytiksliai 10 mikronų; iš kitos pusės, didžioji nešiklio dalis gali būti sudaryta iš daug didesnių dalelių („stambiosios dalelės“), todėl gali susiformuoti „sutvarkytas mišinys“ tarp aktyviųjų junginių ir minėtojo nešiklio. Sutvarkytame mišinyje, kitaip dar sąveikiniame arba lipiajame mišinyje, smulkios vaistų dalelės (šiam išradime aktyvieji junginiai) gana vienodai pasiskirsto po stambesniųjų ekscipiento dalelių (šiam išradime farmaciškai priimtino nešiklio) paviršių. Geriau kai tokiu atveju aktyvieji junginiai nesudaro aglomeratų 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 stambiosios dalelės įvairaus dydžio, jei reikia tai pagal praktinius tam tikro recepto reikalavimus. Nors nėra reikalavimo, kad stambiosios dalelės sutvarkytame mišinyje turėtų vienodą dydį, tačiau naudingiau kai stambiosios dalelės sutvarkytame mišinyje yra panašaus dydžio. Labiau priimtina, kai stambiosios dalelės turi skersmenį 60-800 mikronų.

Poliipeptidu gali būti bet kuris mediciniškai ar diagnostškai naudingas peptidas ar proteinas (tame tarpe analogai ir modifikuoti ar sutrumpinti jų dariniai) mažo ar vidurinio dydžio, t.y. iki 40 kD molekulinio svorio (MS), kuriems būtinas sisteminis įvedimas. Pagerintos polipeptido absorbcijos mechanizmas pagal šį išradimą paprastai gali būti pritaikytas ir turėtų būti taikomas visiems šiems polipeptidams, nors laipsnis, kuriuo jų absorbcija pagerės, gali kisti priklausomai nuo MS ir polipeptido fizikinių ir cheminių savybių bei nuo konkretaus panaudoto skatintojo. Tikimasi, kad polipeptidai, turintys molekulinį svorį iki 30 kD, bus labiausiai naudingi šiame išradime, kaip antai polipeptidai, turintys molekulinį svorį iki 25 kD arba iki 20 kD, ir ypač iki 15 kD ar 10 kD. Bet kuri norimą polipeptidą nesunkiai galima išbandyti, naudojant jį pagal šį išradimą su konkrečiu skatintoju *in vitro* ir *in vivo* bandymuose, kaip aprašyta žemiau. Toliau bet kuri nuoroda į

polipeptidą, peptidą ar proteiną ar bet kurį specifinį polipeptidą, peptidą ar proteiną apima ir nuorodas į bet kurį analogą arba modifikuotą ar sutrumpintą jo darinį.

Skatinančiuoju junginiu, naudojamu šio išradimo kompozicijose, gali būti bet kuri medžiaga, kuri pagerina polipeptido absorbciją per žemesniųjų kvėpavimo takų epitelį į didįjį kraujo apytakos ratą. Žodžiai „pagerinta absorbcija“ reiškia, kad absorbuoto į didįjį kraujo apytakos ratą polipeptido kiekis yra didesnis esant skatintojui už kiekį be skatintojo. Labiau priimtina, kai absorbuoto polipeptido kiekis patikimai didesnis ($p < 0,05$) esant skatintojui. Ar tam tikras potencialus skatintojas tinka naudoti šiame išradime, nesunku nustatyti panaudojant *in vivo* ir *in vitro* bandymus, kaip čia aprašyta.

Geriau, kai absorbuoto polipeptido kiekis pagal šį išradimą yra bent 150% kiekio, absorbuoto kai nėra skatintojo. Labiau priimtiniuose įgyvendinimuose, polipeptido absorbcija bent jau padvigubinama, dar geriau patrigubinama ir geriausia kai padidėja keturis kartus esant skatintojui, lyginant su atveju kai nėra skatintojo.

Geriau, kai skatintojas yra paviršiaus aktyvioji medžiaga, kaip antai riebiosios rūgšties druska, tulžies druska, tulžies druskos darinys, alkilo glikozidas, ciklodekstrinas arba fosfolipidas. Skatintojas gali būti, pavyzdžiui, riebiosios rūgšties natrio, kalio arba organinio amino druska, ir geriau kai riebioji rūgštis yra kaprino rūgštis arba kita riebioji rūgštis iš 10-14 anglies atomų. Geriau kai skatintojas yra natrio kapratas. Geriau kai polipeptido ir skatintojo santykis kinta nuo apytiksliai 9:1 iki apytiksliai 1:1. Nors santykiai didesni kaip 1:1 turėtų pagerinti įsisavinimą taip pat ar net labiau lyginant su mažesnėmis proporcijomis, manoma, kad naudojamo skatintojo kiekis turėtų būti ne didesnis, nei kiekis būtinas pasiekti norimą pagerinimo lygį, nes skatintojo perteklius gali sukelti nepageidaujamus pašalinius efektus, pavyzdžiui, vietinį sudirginimą.

Išradimas taip pat susietas su sisteminiu farmaciškai aktyvaus polipeptido įvedimo būdu, kuriame liepia pacientui inhaliuoti išradimo farmacinę kompoziciją, kurioje bent 50% visos aktyviųjų junginių masės, prieš patenkant į paciento kvėpavimo takus, sudaryti iš dalelių, kurių skersmuo mažesnis arba lygus apytiksliai 10 mikronų. Geriau tai atlikti naudojant inhaliatorių, per kurį pacientas įkvepia miltelius. Jei miltelių kompozicija sudaryta iš pirminių dalelių aglomeratų, geriau kai inhaliatorius taip sukonstruotas, kad suskaido žymią aglomeratų dalį pacientui įkvepiant miltelius iš inhaliatoriaus tam, kad daugumą aglomeratų suskaldytų į daleles, kurių skersmuo mažesnis arba lygus apytiksliai 10 mikronų, prieš patenkant milteliams į paciento kvėpavimo sistemą. Šis suskaidymas turėtų įvykti prietaiso viduje ir paprastai indukuojamas oro turbulencijos, sukeltos prietaise dėl įkvėpimo jėgos. Bendru atveju, geriau kai sutvarkytame mišinyje aglomeratai nesusidaro. Sutvarkyto mišinio atveju, geriau kai aktyvieji junginiai atpalaiduojami nuo didžiųjų dalelių įkvepiant arba mechaninių priemonių pagalba inhaliatoriuje, arba tiesiog įkvėpimo pagalba arba kitais būdais, tada aktyvieji junginiai nusėda žemesniuose kvėpavimo takuose, o nešiklio dalelės burnoje.

Geriau kai inhaliatorius yra vienos dozės sausų miltelių inhaliatorius, bet gali būti ir daugelio dozių sausų miltelių inhaliatorius.

Išradimas taip pat apima farmacinės kompozicijos, tinkamos įvesti inhaliuojant, gamybos procesą. Viena iš tokių procesų, paruošiamas tirpalas, kuriame ištirpę (a) farmaciškai aktyvus polipeptidas ir (b) skatinantysis junginys, kuris pagerina polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniuosiuose kvėpavimo takuose. Po to tirpiklis iš tirpalo pašalinamas, kad gautųsi sausa kieta masė, sudaryta iš polipeptido ir skatintojo ir sausa masė sutrinama, kad gautųsi milteliai. Antrame tokiaame procese sumaišo sausus (a) farmaciškai aktyvų polipeptidą ir (b) skatinantįjį junginį, ir susmulkina gautą mišinį iki mikroninių dalelių. Dar trečiame tokiaame procese paruošia, pirma, susmulkintą iki mikroninių dalelių preparatą, sudarytą iš polipeptido ir, antra, susmulkintą iki mikroninių dalelių preparatą, sudarytą iš skatinančiojo junginio, ir sumaišo šiuos du preparatus, susmulkintus iki mikroninių dalelių, drauge. Kai reikia pridėti nešiklį, neskirtą sudaryti sutvarkytam mišiniui, jį galima pridėti į tirpalą arba į farmaciškai aktyvaus polipeptido sausą mišinį, prieš susmulkinimą iki mikroninių dalelių, arba susmulkintas iki mikroninių dalelių nešiklis gali būti sumaišomas sausas su kitomis susmulkintomis iki mikroninių dalelių sudedamosiomis dalimis. Gaminant sutvarkytą mišinį, susmulkinti iki mikroninių dalelių polipeptidas ir skatintojas sumaišomi su tinkamu nešikliu.

Trumpas brėžinių aprašymas

Fig. 1. Grafikas, iliustruojantis skirtingų skatintojo, natrio kaprato, koncentracijų poveikį į žymėtojo junginio (manitolio) transportą per vienasluoksne epitelinį ląstelių kultūrą.

Fig. 2. Grafikas, iliustruojantis skirtingų skatintojo, natrio kaprato, koncentracijų poveikį į žymėtojo junginio (manitolio) transportą per vienasluoksne epitelinį ląstelių kultūrą, esant polipeptidui (natrio kapratas:polipeptidas 1:3 pagal svorį).

Fig. 3 Polipeptido koncentracija plazmoje, kaip funkcija nuo laiko po inhaliacijų vien tik polipeptidu, polipeptidu su natrio kapratu santykiu 90:10 ir polipeptidu su natrio kapratu santykiu 75:25.

Žemiau pateikti bendri aprašymai kai kurių labiau priimtinių išradimo įgyvendinimų.

Polipeptidas

Geriau kai polipeptidas yra peptidinis hormonas, skirtingas nuo insulino, kaip antai vazopresinas, vazopresino analogai, desmopresinas, gliukagonas, kortikotropinas (ACTH), gonadotropinas (liuteinizuojantis hormonas, arba LHRH), kalcitoninas, insulino C-peptidas, paratireoidinis hormonas (PTH), žmogaus augimo hormonas (hGH), augimo hormonas (GH), augimo hormoną atpalaiduojantis hormonas (GHRH), oksitocinas, kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas (CRH), somatostatino analogai, gonadotropino

agonisto analogai (GnRHa), prieširdžio natriuretinis hormonas (hANP), tiroksiną atpalaiduojantis hormonas (TRHrh), stimuliuojantis folikulą hormonas (FSH) arba prolaktinas.

Tarp kitų galimų polipeptidų yra augimo faktorius, interleukinai, polipeptidinės vakcinos, fermentai, endorfinai, glikoproteinai, lipoproteinai arba polipeptidai, įtraukti į kraujo krešėjimo grandinę, kurių farmakologinis poveikis pasireiškia sistemingai. Tikimasi, kad daugumas, jei ne visi, polipeptidai, turintys mažą ar vidutinį dydį, santykinai gerą tirpumą vandenyje ir izoelektrinį tašką tarp apytiksliai pH3 ir pH8, gali būti efektyviai įvedami pasinaudojant šio išradimo būdais.

Skatintojas

Absorbcijos skatintojas turi ypatingą svarbą, kadangi vienas polipeptidas labai blogai absorbuojamas plaučiuose. Kaip skatintojas gali būti panaudotas bet kuris junginys, kuris geriną absorbciją į gretimus plaučių kraujotakos indus per epitelinių ląstelių sluoksnį, apjuosiantį kvėpavimo takus. Skatintojas tai gali atlikti keliais galimais būdais:

(1) Paraląstelinio laidumo polipeptidui pagerinimas, sukeliant struktūrinius pokyčius kietuose sujungimuose tarp epitelinių ląstelių.

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

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

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

Skatintojas gali veikti arba pagal vieną iš mechanizmų, pateiktų aukščiau, arba pagal du ar 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 aktyvi medžiaga turi pataikyti į tam tikrą balansą tarp pakankamo tirpumo ir pakankamo paviršiaus aktyvumo.

Kita paviršiaus aktyviosios medžiagos savybė, kuri gali būti svarbi, tai paviršiaus aktyviosios medžiagos grynasis krūvis prie plaučių pH reikšmės (apytiksliai 7,4). Prie pH 7,4 kai kurie polipeptidai turi neigiamą grynąją krūvį. Tai gali sukelti elektrostatinį atstūmimą tarp molekulių, kas savo ruožtu neleidžia agreguotis ir todėl padidina tirpumą. Jei paviršiaus aktyvioji medžiaga taip pat turi neigiamą krūvį, tai ji gali sąveikauti su polipeptidu, pavyzdžiui, hidrofobiškai ir todėl atsiranda papildoma stūma tarp polipeptido molekulių. Šiuo atveju, anijoninė paviršiaus aktyvioji medžiaga turės papildomą pranašumą (lyginant su tomis, kurios yra neutralios ar turi teigiamą grynąją krūvį prie fiziologinio pH) gerinant absorbciją, padėdama stabilizuoti polipeptidą monomerinėje būsenoje.

Visa eilė skirtingų junginių, potencialiai naudingų kaip skatintojai šio išradimo būduose, buvo išbandyti ant pelių, kaip aprašyta žemiau 2 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, tokiuose *in vivo* bandymuose arba, kitu būdu, *in vitro* bandymuose, aprašytuose 1 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.

Skatintojas, naudingas šio išradimo būduose, turi suderinti efektyvų polipeptido absorbcijos gerinimą su (1) toksiškumo nebuvimu prie naudojamų koncentracijų ir (2) geromis miltelių savybėmis, t.y., neturėjimu lipnios ar vaškinės konsistensijos 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 natrio druska sočių riebiųjų rūgščių, 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 polipeptido absorbciją žemesniuose kvėpavimo takuose, yra natrio kapratas.

Skirtingi priešingo krūvio jonai gali pakeisti sočiųjų riebiųjų rūgščių druskų tirpumą vandenyje taip, kad gali pasirodyti, jog skatintojas, turintis anglies grandinę ne 10-14 ilgio, bus net pranašesnis už skatintojus, konkrečiai paminėtus aukščiau. Nesočiųjų riebiųjų rūgščių druskos taip pat gali būti naudingos šiame išradime, kadangi jos geriau tirpsta

vandenyje, negu sočių riebiųjų rūgščių druskos, ir todėl gali turėti ilgesnę grandinę nei pastarosios, bei vis dar išlaikyti tirpumą, būtiną sėkmingai pagerinti polipeptido absorbciją.

Visos testuotos tulžies druskos ir tulžies druskų dariniai (ursodezoksicholato, taurocholato, glikocholato ir taurodihidrofuzidato natrio druskos) efektyviai pagerina polipeptido absorbciją plaučiuose.

Fosfolipidai taip pat buvo patikrinti kaip skatintojai. Buvo aptikta, kad vienos grandinės fosfolipidas (lizofosfatidilcholinai) buvo geras skatintojas, tuo tarpu dvigrandiniai fosfolipidai (dioktanoilfosfatidilcholinai ir didekanoilfosfatidilcholinai) nebuvo gerais 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 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.

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

Ciklodekstrinai ir jų dariniai efektyviai gerina absorbciją nosyje ir galėtų panašiai veikti plaučiuose. Dimetil- β -ciklodekstrinas buvo išbandytas ir gauta, jog jis turi absorbciją gerinančių savybių.

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

Joninių skatintojų (pvz., aukščiau aprašytų anjoninių 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, miltelinėms savybėms, tirpumui, stabilumui, higroskopiškumui ir lokaliui/sisteminiui toksiškumui. Jis taip pat gali paveikti polipeptido, su kuriuo jis derinamas, stabilumą ir/arba tirpumą. Bendru atveju, reiktų laukti, kad monovalentiniai metalų katijonai, kaip antai natriis, kalis, litis, rubidis ir cezis bus naudingi kaip priešingo krūvio jonai anjoniniams skatintojams. Amoniakas ir organiniai aminorai sudaro kitą klasę katijonų, kurie, kaip laukiama, tiks panaudojimui su anjoniniais skatintojais, turinčiais karboksilinės rūgšties grupę. Tarp tokių organinių aminių yra etanolaminas, dietanolaminas, trietanolaminas, 2-amino-metiletilaminas, betainai, etilendiaminas, N,N-dibenziletilentetraaminas, argininas, heksametilentetraaminas, histidinas, N-metilpiperidinas, lizinas, piperazinas, spermidinas, sperminas ir tris(hidroksimetil)aminometanas.

Kadangi efektyvus polipeptido 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 polipeptido, įvesto pro nosies membraną, 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 dydį ir priedo sumažina polipeptido tirpumą, šių jonų surišimas teoriškai turi tiek padidinti polipeptido tirpumą, tiek ir padidinti paraląstelinį polipeptidų skvarbumą. Nors vienas ištirtas chelatas, etilendiamintetraacto rūgšties natrio druska (EDTA), pasirodė neefektyvus gerinant insulino absorbciją išbandytame žiurkės modelyje, kiti kalcį surišantys chelatai, gali pasirodyti labiau vertingais.

Polipeptido ir skatintojo proporcijos

Santykinės polipeptido ir skatintojo proporcijos, jei reikia, gali būti keičiamos. Turi būti pakankamas kiekis skatintojo, kad galėtų absorbuotis įkvėptas polipeptidas; tačiau skatintojo kiekis turi būti išlaikomas kaip galima mažesnis, kad minimizuoti skatintojo sukeltų nepalankių poveikių riziką. Nors kiekvienas polipeptido/skatintojo derinys turi būti išbandytas, kad būtų nustatytos optimalios proporcijos, reiktų laukti, jog daugiau kaip 10% polipeptido/skatintojo mišinio turi sudaryti skatintojas, kad būtų pasiektas priimtinas polipeptido absorbcijos lygis; daugeliui skatintojų tipų skatintojo dalis turėtų būti didesnė už 15% arba didesnė už 20%, o geriau tarp 25% ir 50%. Priimtinesnį polipeptido/skatintojo santykį (arba polipeptido/skatintojo/skiediklio) lengvai gali nustatyti specialistas su įprastiniu patyrimu farmakologijoje, panaudodamas standartinius būdus, paremtus tokiais kriterijais kaip optimalios dozės pakankamas ir pastovus įvedimas, pašalinių poveikių minimizavimas ir priimtinas absorbcijos greitis.

Kad preparatai veiktų daugiau nereikia jokių ingredientų, bet jei reikia jie gali būti įjungti. Papildomos medžiagos gali būti įjungiamos į duotą, pavyzdžiui, tam, kad milteliai atskestų iki kiekio, kurį galima įvesti panaudojant konkretų norimą miltelių inhaliatorių; kad palengvėtų preparato apdorojimas; pagerėtų preparato miltelių savybės; padidėtų preparato stabilumas, pvz., panaudojant antioksidantus arba pH-koreguojantys junginius; arba pridėti į preparatą skonį. Bet kuris iš šių priedų privalo nedaryti neigiamo poveikio insulino stabilumui ar skatintojo absorbcijai arba žalingai paveikti insulino absorbciją. Jis turi būti stabilus, neturi būti higroskopiškas, turėti geras miltelių savybes, nedaryti nepalankių poveikių kvėpavimo takams. Kaip potencialiai naudingus priedus gali paminėti mono-, di- ir polisacharidus, cukrų alkoholius ir kiti polioliai, pvz., laktozę, gliukozę, rafinozę, melezitozę, laktitolį, maltitolį, trechaliozę, sacharozę, manitolį ir krakmolą. Kaip redukuojantys cukrūs, laktozė ir gliukozė linkusios suformuoti su proteinais kompleksus,

neredukuojantys cukrūs, tokie kaip rafinozė, melekitozė, laktitolis, maltitolis, trehalozė, sacharozė, manitolis ir krakmolas gali būti labiau 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 inhaliatorių, reikalaujančių didelio miltelių tūriogali sudaryti bet kokią dalį, nuo 0% (t.y. be priedų) iki arti 100% viso preparato.

Labiau priimtinae įgyvendinime, šis išradimas pateikia terapinį farmaciškai aktyvaus polipeptido ir medžiagos, kuri pagerina minėtojo polipeptido absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, preparatą, kuris yra sausų miltelių pavidale, tinkamame inhaliacijoms, ir kuriame bent 50% visos masės sudaryta iš (a) dalelių turinčių skersmenį, mažesnį už apytiksliai 10 mikronų, arba (b) minėtųjų dalelių aglomeratų; kitame labiau priimtinae įgyvendinime išradimas siūlo terapinį preparatą, sudarytą iš farmaciškai aktyvaus polipeptido, medžiagos, kuri pagerina minėtojo polipeptido absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, ir farmaciškai priimtino nešiklio, ir šiame preparate bent 50% visos masės sudaryta iš (a) dalelių turinčių skersmenį, mažesnį už apytiksliai 10 mikronų, arba (b) minėtųjų dalelių aglomeratų; ir dar kitame labiau priimtinae įgyvendinime išradimas siūlo terapinį preparatą, sudarytą iš aktyviųjų junginių (A) farmaciškai aktyvaus polipeptido ir (B) medžiagos, kuri pagerina minėtojo polipeptido absorbciją žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, bei šiame preparate bent 50% visos aktyviųjų junginių, (A) ir (B), masės sudaryta iš dalelių, turinčių skersmenį, mažesnį už apytiksliai 10 mikronų, ir farmaciškai priimtino nešiklio, bei šis preparatas yra tinkamame inhaliacijoms sausų miltelių pavidale, kuriame gali susiformuoti sutvarkytas mišinys tarp aktyviųjų junginių ir farmaciškai priimtino nešiklio.

Aprašytasis miltelių preparatas gali būti pagamintas keliais būdais, naudojant standartines metodikas. Daugeliu atveju, išgrynintas polipeptidas gali būti gautas iš komercinių šaltinių. Kitu atveju, dominantis polipeptidas gali būti išgrynintas iš natūraliai egzistuojančių šaltinių, panaudojant tradicines biochemines metodikas, arba gali būti gautas ekspresuojant prokariotines ar eukariotines ląsteles, kurioms genetinės inžinerijos būdais įsodinta nukleotidų seka, koduojanti polipeptidą ir turinti atitinkamas papildomai prijungtas ekspresiją kontroliuojančias sekas (tame tarpe transgeniniai gyvūnai, galintys gaminti norimą peptidą ar proteiną, pavyzdžiui, savo piene). Tai standartiniai būdai šioje srityje (pvz., žiūrėk Sambrook ir kt., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989). Peptidus (t.y., polipeptidus, turinčius 30 ar mažiau aminorūgščių liekanų) lengvai galima susintetinti, naudojant žinomas chemines metodikas.

Absorbcijos skatintojus, aprašytus aukščiau, taip pat paprastai galima gauti iš komercinių šaltinių arba pagaminti, vartojant skelbtus būdus. Joninių skatintojų atveju

susietas su jais jonas su priešingu krūviu, jei reikia, gali būti pakeistas kitu, naudojant standartines jonų kaitos metodikas.

Gaminant aprašytuosius miltelių preparatus, tam tikrame proceso etape paprastai būtina miltelius 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). Pavyzdžiui, galima sumaišyti sausus polipeptido ir skatintojo miltelius ir po to kartu abi medžiagas susmulkinti iki mikroninių dalelių; kitu atveju, medžiagos gali būti smulkinamos atskirai ir tada sumaišomos. Kai maišomi junginiai turi skirtingas fizines savybes, pavyzdžiui, tvirtumą ir trapumą, atsparumas smulkinimui iki mikroninių dalelių skiriasi ir gali tekti panaudoti skirtingą slėgį, kad suskaldyti iki tinkamo dalelių dydžio. Todėl, smulkinant drauge, vieno iš komponentų dalelių dydžiai gali būti nepatenkinami. Tokiais atvejais būtų geriau skirtingus komponentus smulkinti atskirai ir po to juos sumaišyti.

Taip pat galima pirma sudedamąsias dalis ištirpinti tinkamame tirpiklyje, pvz., vandenyje, kad susimaišytų molekuliniame lygyje. Ši procedūra taip pat leidžia suderinti pH reikšmę norimame lygyje, pavyzdžiui, pagerinti polipeptido absorbciją. Reikia turėti omenyje farmaciškai priimtinas pH ribas, inhaliuojamiems produktams, nuo pH 3,0 iki 8,5, kadangi produktai su pH už šių ribų sukeltų kvėpavimo takų sudirginimą ir susitraukimą. Kad gautume miltelius reikia pašalinti tirpiklį taip, kad būtų išlaikytas polipeptido biologinis aktyvumas. Tarp tinkamų džiovinimo būdų yra vakuuminis išgarinimas, atviras džiovinimas, džiovinimas išpuškiant ir džiovinimas užšaldant. Bendru atveju, reiktų vengti temperatūros virš 40 °C ilgiau kaip kelias minutes, nes kai kurie polipeptidai gali degraduoti. Po džiovinimo žingsnio, jei reikia, kietąją medžiagą galima sutrinti iki rupių miltelių, po to, jei reikia, susmulkinti iki mikroninių dalelių.

Jei reikia, susmulkinti iki mikroninių dalelių milteliai gali būti apdoroti, kad pagerėtų takumo savybės, pvz., sausi granuluoti, kad susiformuotų sferiniai aglomeratai su geresnėmis operavimo jais savybėmis, prieš jų įdėjimą į numatytą inhaliatorių. Tokiais atvejais, inhaliatorius turi būti taip sukonstruotas, kad užtikrintų didžiosios aglomeratų dalies suskaidymą prieš jiems išeinant iš prietaiso, kad didžioji dalelių dalis, patenkanti į kvėpavimo traktą, būtų norimų dydžių diapazone. Ten kur reikalingas sutvarkytas mišinys, aktyvusis junginys gali būti apdorotas, pvz., susmulkintas iki mikroninių dalelių, tam, kad, jei reikia, gautųsi dalelės, 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 tikras šiurkštumas, ir būtų užtikrintos optimalios lipnumo jėgos sutvarkytame mišinyje. Tokie fiziniai reikalavimai sutvarkytiems mišiniams puikiai žinomi, nes yra įvairiausių priemonių gauti sutvarkytus mišinius,

patenkinančius minėtųsious reikalavimus, ir įgudęs asmuo lengvai gali juos apibrėžti, įvertindamas konkrečias aplinkybes.

Labiau priimtinas inhaliatorius privalo turėti šias konstrukcijos ypatybes: turi 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, esant plačiam srauto greičių intervalui; mažai nukrypti nuo dozės ir įkvepiamos frakcijos; išlaikyti mažą miltelių kiekį kandiklyje - tai ypač aktualu daugelio dozių inhaliatoriuose, kuriuose polipeptidas, išlaikytas kandiklyje, gali degraduoti ir po to būti įkvėptas su kita doze; turėti mažą absorbciją inhaliatoriaus paviršiuje; lankstumą pasirenkant dozės dydį; ir mažą pasipriešinimą įkvėpimui. Geriau, kai inhaliatorius yra vienos dozės, nors daugelio dozių inhaliatoriai, pavyzdžiui, daugelio dozių, daugkartinio vartojimo, sausų miltelių inhaliatorius, paleidžiamas įkvėpimu, gali taip pat būti vartojamas. Geriau vartoti vienos dozės, paleidžiamą įkvėpimu, sausų miltelių, vienkartinio vartojimo inhaliatorių.

Buvo paruošta ir *in vivo* išbandyta visa eilė sausų miltelių receptūrų, į kurias įeina polipeptidas ir įvairūs skatintojai, kaip aprašyta žemiau. Taip pat aprašyti *in vitro* bandymai, naudingi išbandant polipeptido/skatintojo derinius.

1 Pavyzdys: Konkretaus polipeptido vertės šiam išradimui nustatymas *in vitro* būdu.

Buvo sukurtas standartinis *in vitro* bandymas su epitelinų ląstelių linija, CaCo-2 (ją galima gauti iš American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, JAV), kad būtų galima įvertinti įvairių skatinančių junginių sugebėjimus, skatinti žymėtųjų medžiagų transportą per epitelinų ląstelių monosluoksnį, kuris yra epitelinų ląstelių sluoksnio, esančio plaučiuose ir skiriančio alveoles nuo plaučių kraujo apytakos indų, modelis.

Šiame bandyme įvairios skatintojo ir polipeptido ar kitos žymėtosios medžiagos proporcijos ir/arba koncentracijos ištirpinamos vandeniniame tirpale, ir užnešamos ant apikalinės ląstelių monosluoksnio pusės. Po inkubacijos 60 min prie 37 °C ir 95% SD (santykinės drėgmės) nustatomas žymėtosios medžiagos kiekis ląstelių bazolateraliniame gale, pvz., panaudojant medžiagą su radioaktyviąją žyme.

Tiriant natrio kapratą žymėtosios medžiagos (manitolis, MS 360) kiekis, kuris pasirodo bazolateralinėje pusėje, priklauso nuo panaudoto skatintojo kiekio, bent jau iki 16 mM natrio kaprato (Fig. 1). Tai galioja net jei prie skatintojo/manitolio mišinio pidedamas polipeptidas, insulinas, (1:3 natrio kapratas:insulinas, pagal svorį) (Fig. 2). Taip pat buvo pastebėta, kad ši natrio kaprato koncentracija (16 mM) skatina dviejų žemo molekulinio svorio peptidų, insulino (MS 5734) ir vazopresino (MS 1208), absorbciją pro ląstelių monosluoksnį. Insulino kiekis, kuris praeina pro monosluoksnį, padvigubėja, kai pridama 16 mM natrio kaprato, lyginant su kiekiu be jokio skatintojo; vazopresino

kiekis, kuris praeina pro monosluoksni, padidėja 10-15 kartų, lyginant su kiekiu be jokio skatintojo.

Priešingai, nebuvo pastebėtas joks didelių proteinų, kaip antai citochromo C (MS 12300), anglies anhidrazės (MS 30000) ir albumino (MS 69000) transporto greičio padidėjimas, kai buvo tiriami su natrio kaprato koncentracija iki 16 mM. Galima tikėtis, kad esant didesnėms natrio kaprato koncentracijoms, ląstelių pralaidumas dar labiau padidės ir praleis didesnius polipeptidus; tačiau potencialus natrio kaprato citotoksiškumas gali neleisti panaudoti daug didesnės šio konkretaus skatintojo koncentracijas.

Kiti skatintojai gali paskatinti didesnių polipeptidų transportą; juos taip pat galima išbandyti su šiuo epitelinių ląstelių pralaidumo *in vitro* modeliu, kuris gali būti vartojamas kaip greita patikrinimo priemonė, išbandant ar šio išradimo būdui tinka norimas polipeptido/skatintojo derinys.

2. Pavyzdys: Šiam išradimui tinkamų skatintojų parinkimo būdas.

Buvo išbandytas kiekvieno I Lentelėje pateikto junginio sugebėjimas pagerinti polipeptido (insulino) įsiurbimą žiurkės modelyje. Rezultatai, gauti su insulinu, laikomi skatintojo potencialiais sugebėjimais pagerinti kitų polipeptidų absorbciją.

Skirtinguose bandymuose buvo panaudotos įvairios insulino formos: žmogaus rekombinantinė, žmogaus ar jaučio pusiau sintetinė. Kiekvienas preparatas buvo paruošiamas kaip aprašyta aukščiau, džovinant ir apdorojant insulino/skatintojo arba insulino/skatintojo/laktozės tirpalą, kad gautųsi milteliai, tinkami inhaliavimui. 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 žiurkių, kurios inhaliavo insulino preparatus be skatintojo.

Ta pati *in vivo* modelinė sistema gali būti panaudota išbandyti bet kokio peptido ar proteino tinkamumą šio išradimo būduose, įvedant tuo pačiu inhaliacijų būdu preparatą, turintį norimą peptidą ar proteiną sumaišytą su skatintoju, ir stebint norimo peptido ar proteino koncentraciją bandomųjų gyvūnų didžiajame kraujyje apytakos rate (pvz., standartinių imunomėginių ar biocheminių mėginių, būdingų duotajam peptidui ar proteinui).

I LENTELE

Medžiaga	Skatintojas:Insulinas: laktozė	Efektas
Oktilgliukopiranozidas	4:4:92	(+)
Natrio ursodezoksicholatas	4:4:92	+
Natrio taurocholatas	4:4:92	+
Natrio glikocholatas	4:4:92	+
Lizofosfatidilcholinai	4:4:92	+
Dioktanoilfosfatidilcholinai	2:4:94	(+)
Didekanoilfosfatidilcholinai	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 lygio sumažėjimą kraujyje

- nėra arba labai mažas efektas

(+) efektas, ne toks žymus kaip „+“

3 Pavyzdys: Terapinis preparatas pagal išradimą

Žmogaus augimo hormonas (hGH, MS 22kD, šaltinis Humatrope iš Lilly, 3 dalys) buvo sumaišytas su natrio kapratu (1 dalis). Mišinys buvo sumaltas Retsch'o mechaniniame malūne iki dalelių, kurių skersmens mediana lygi 6,7 μm.

Gauti milteliai buvo įvedami į žiurkių trachėją bei hGH įsisavinimas buvo palygintas su miltelių, turinčių skersmens medianą lygią 9,6 μm ir sudarytų iš hGH ir manitolio su tomis pačiomis proporcijomis bei paruoštų tuo pačiu būdu kaip aprašyta aukščiau, įsisavinimu.

Rezultatai parodė geresnį hGH įsisavinimą kai preparatas turėjo natrio kaprato, lyginant su įsisavinimu, kai preparatas buvo be skatintojo.

4 Pavyzdys: Preparatas, turintis polipeptidą insulina

Insulinas čia naudojamas kaip būdingas kitų šio išradimo polipeptidų atstovas.

Biosintetintas žmogaus insulinas (53 g) buvo smulkinamas iki mikroninių dalelių Airfilco čiurkšlinėje trintuvėje (Firmos ženklas, Airfilco Process Plant Limited), su suslėgtu azotu (padavimo slėgis 7 barai, slėgis inde 5 barai) kol pasiekta 2,4 mikrometrų skersmens mediana.

Natrio kapratas (170 g) buvo susmulkintas iki mikroninių 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 insulino buvo įdedama 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.

Taip gautas preparatas buvo įvedamas 5 šunims inhaliuojant, dozė 1 U/kg, ir buvo nustatomas plazmos insulino kiekis įvairiais laiko momentais po įvedimo.

Gauti rezultatai buvo palyginti su plazmos insulino kiekiais, gautais kai biosintetintas insulinas, susmulkintas iki skersmens medianos 2,4 mikrometrų, kaip aprašyta aukščiau, buvo įvestas penkiems šunims tuo pačiu būdu ir tomis pačiomis dozėmis, bei su plazmos insulino kiekiais, 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 filtracija su žmogaus pusiau sintetiniu 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 sukanč kol pasidarė skaidrus ir pH buvo privestas iki 7,0. Tirpalas buvo koncentruojamas, garinant 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.

Šių palyginimų rezultatai pateikti Fig. 3 ($p=0,0147$ skirtumui tarp 75:25 ir 100:0). Rezultatai parodė tam tikrą insulino įsisavinimo pagerėjimą 90:10 preparato atveju ir labai ryškų insulino įsisavinimo pagerėjimą 75:25 preparato, turinčio natrio kaprato, atveju lyginant su vienu insulinu.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Farmacinė kompozicija turinti mišinį aktyviųjų junginių (A) farmaciškai aktyvų polipeptidą arba jo analogą, arba pakeistą ar sutrumpintą jo darinį ir (B) skatinantįjį junginį, kuris pagerina minėtojo polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtas mišinys yra sausų miltelių, skirtų inhaliacijoms, pavidale, kuriame bent jau 50% visos aktyviųjų junginių masės susideda iš pirminių dalelių, turinčių skersmenį mažesnę arba lygų 10 mikronų, bei minėtosios pirminės dalelės pasirinktinai gali sudaryti aglomeratus.

2. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad papildomai turi farmaciškai priimtina nešiklį, kuris sudarytas arba iš:

(a) dalelių, turinčių skersmenį mažesnę už apytiksliai 10 mikronų, tokių, kad bent 50% galutinių miltelių susideda pasirinktinai iš aglomeruotų pirminių dalelių, turinčių skersmenį mažesnę už 10 mikronų, arba iš

(b) stambesnių dalelių, tokių, kad susiformuoja sutvarkytas mišinys tarp aktyviųjų junginių ir minėtojo priedo.

3. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas yra polipeptidinis hormonas.

4. Kompozicija pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis hormonas yra vazopresinas, vazopresino analogas, desmopresinas, gliukagonas, kortikotropinas (ACTH), gonadotropinas (liuteinizuojantis hormonas, arba LHRH), kalcitoninas, insulino C-peptidas, paratireoidinis hormonas (PTH), žmogaus augimo hormonas (hGH), augimo hormonas (GH), augimo hormoną atpalaiduojantis hormonas (GHRH), oksitocinas, kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas (CRH), somatostatino analogai, gonadotropino agonisto analogai (GnRHa), prieširdžio natriuretinis peptidas (hANP), tiroksiną atpalaiduojantis hormonas (TRHrh), folikulą stimuliuojantis hormonas (FSH) arba prolaktinas.

5. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas yra augimo faktorius, interleukinas, polipeptidinė vakcina, fermentas, endorfinas, glikoproteinas, lipoproteinas arba polipeptidas, įtrauktas į kraujo krešėjimo grandinę, kurio farmakologinis poveikis pasireiškia sistemingai.

6. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas turi molekulinį svorį mažesnį už 30 kD.

7. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas turi molekulinį svorį mažesnį už 25 kD.

8. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas turi molekulinį svorį mažesnį už 20 kD.

9. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas turi molekulinį svorį mažesnį už 15 kD.

10. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis polipeptidas turi molekulinį svorį mažesnį už 10 kD.

11. Kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtasis skatinantis junginys yra paviršiaus aktyvioji medžiaga.

12. Kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtoji paviršiaus aktyvioji medžiaga yra tulžies druska, tulžies druskos darinys, alkilo glikozidas, ciklodekstrinas ar jo darinys arba fosfolipidas.

13. Kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtoji paviršiaus aktyvioji medžiaga yra riebiosios rūgšties druska.

14. Kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtoji riebioji rūgštis turi 10-14 anglies atomų.

15. Kompozicija pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtoji riebioji rūgštis yra kaprino rūgštis.

16. Kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtoji paviršiaus aktyvioji medžiaga yra natrio kapratas.

17. Kompozicija pagal 2 punktą b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtas priedas yra parenkamas iš mono-, di- ir polisacharidų, cukrų alkoholių ir kitų poliolių.

18. Kompozicija pagal 2 punktą b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtas priedas yra neredukuojantys cukrūs.

19. Kompozicija pagal 2 punktą b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėtas priedas yra rafinozė, melezitozė, laktitolis, maltitolis, trehalozė, sacharozė, manitolis, krakmolos.

20. Inhaliatorius, turintis talpą inhaliuojamai kompozicijai iš minėtųjų aglomeratų laikyti, kandiklį aktyviam įkvėpimui oro kanalais sujungtą su dozavimo kamera, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad turi priemonę, suskaidančią daugumą minėtųjų aglomeratų į daleles, kurių skersmuo mažesnis arba lygus apytiksliai 10 mikronų, įkvepiant minėtuosius aglomeratus per kandiklį.

21. Farmakologiškai aktyvių polipeptidų sisteminis įvedimo būdas, apimantis tai, kad paruošia kompoziciją, sudarytą iš aktyviųjų junginių, (A) farmaciškai aktyvaus polipeptido arba jo analogo arba jo modifikuoto ar sutrumpinto darinio, ir (B) skatinančiojo junginio, kuris gerina polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniuose kvėpavimo takuose, mišinio, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtąją kompoziciją inhaliuoja sausų miltelių pavidale, ir esant aktyviųjų junginių dalelių skersmeniui mažesniui arba lygiam apytiksliai 10 mikronų, kai jos pasiekia paciento kvėpavimo takus.

22. Būdas pagal 21 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėtąją kompoziciją įkvepia per inhaliatorių, kurio viduje yra minėtieji milteliai, sudaryti iš minėtųjų dalelių aglomeratų, ir minėtus aglomeratus žymia dalimi suskaldo prieš jiems patenkant į minėtojo paciento kvėpavimo takus.

23. Farmacinės kompozicijos, tinkamos įvesti inhaliuojant, gavimo būdas, apimantis tirpalo paruošimą, išdžiovinimą ir susmulkinimą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad paruošia tirpalą kuriame yra ištirpę (a) farmaciškai aktyvus polipeptidas ar jo analogas arba modifikuotas ar sutrumpintas jo darinys, ir (b) skatinantysis junginys, kuris pagerina polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniuose kvėpavimo takuose, pašalina tirpiklį iš minėtojo tirpalo, kad gautų sausą kietą masę, sudarytą iš minėtojo polipeptido ir minėtojo skatinančiojo junginio, ir minėtąją sausą masę sutrina į miltelius.

24. Farmacinės kompozicijos, tinkamos įvesti inhaliuojant, gavimo būdas, apimantis sausų preparatų sumaišymą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad sumaišo sausus (a) farmaciškai aktyvų polipeptidą ar jo analogą arba modifikuotą ar sutrumpintą jo darinį, ir (b) skatinantįjį junginį, kuris pagerina polipeptido sisteminę absorbciją paciento žemesniuose kvėpavimo takuose, ir gautą mišinį susmulkina iki mikroninių dalelių

25. Farmacinės kompozicijos, tinkamos įvesti inhaliuojant, gavimo būdas, apimantis susmulkintų preparatų sumaišymą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad paruošia, pirma, susmulkintą iki mikroninių dalelių preparatą, sudarytą iš polipeptido ar jo analogo arba modifikuoto ar sutrumpinto jo darinio, ir, antra, susmulkintą iki mikroninių dalelių preparatą, sudarytą iš skatinančiojo junginio, kuris pagerina polipeptido absorbciją paciento plaučiuose, ir minėtus pirmąjį ir antrąjį susmulkintus iki mikroninių dalelių preparatus sumaišo.

26. Skatintojo panaudojimas, ruošiant polipeptido ar jo analogo arba modifikuoto ar sutrumpinto jo darinio, inhaliuojamą sausų miltelių preparatą, su pagerinta sisteme minėtojo polipeptido absorbcija žemesniuosiuose kvėpavimo takuose, kuriame bent 50% visos polipeptido ir skatintojo masės sudaryta iš (1) dalelių turinčių skersmenį 10 mikronų arba mažiau, arba (2) minėtųjų dalelių aglomeratų.

27. Panaudojimas pagal 26 punktą, kur polipeptidas yra polipeptidinis hormonas.

28. Panaudojimas pagal 27 punktą, kur minėtasis hormonas yra vazopresinas, vazopresino analogas, desmopresinas, gliukagonas, kortikotropinas (ACTH), gonadotropinas (liuteinizuojantis hormonas, arba LHRH), kalcitoninas, insulino C-peptidas, paratireoidinis hormonas (PTH), žmogaus augimo hormonas (hGH), augimo hormonas (GH), augimo hormoną atpalaiduojantis hormonas (GHRH), oksitocinas, kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas (CRH), somatostatino analogai, gonadotropino agonisto analogai (GnRHa), prieširdžio natriuretinis peptidas (hANP), tiroksiną atpalaiduojantis hormonas (TRHrh), stimuliuojantis folikulą homonas (FSH) arba prolaktinas.

29. Panaudojimas pagal 26 punktą, kur skatintojas yra paviršiaus aktyvioji medžiaga.

30. Panaudojimas pagal 29 punktą, kur skatintojas yra riebiosios rūgšties druska.

31. Panaudojimas pagal 30 punktą, kur skatintojas yra natrio kapratas.

Fig. 1

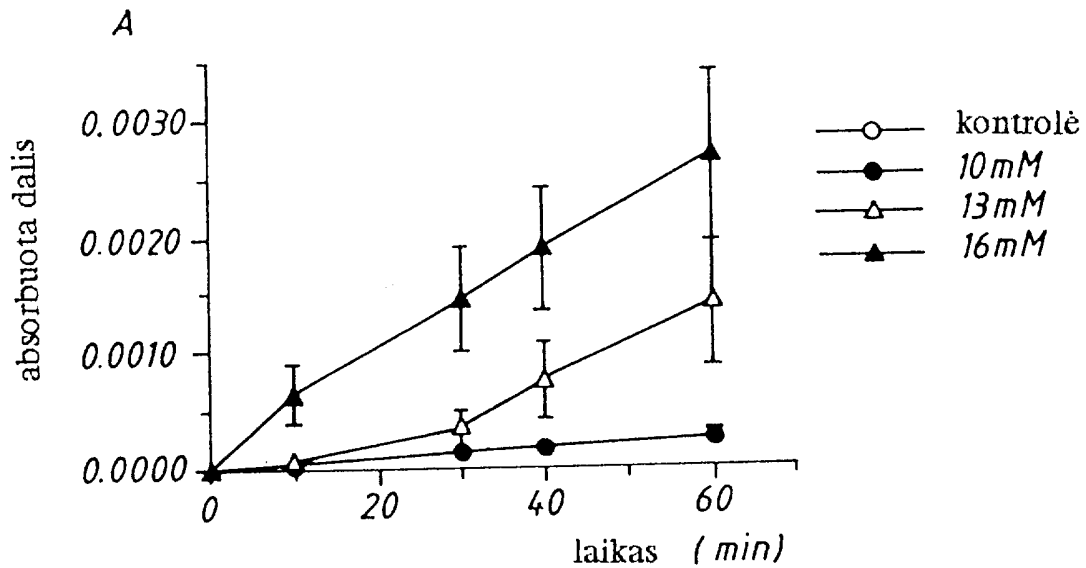
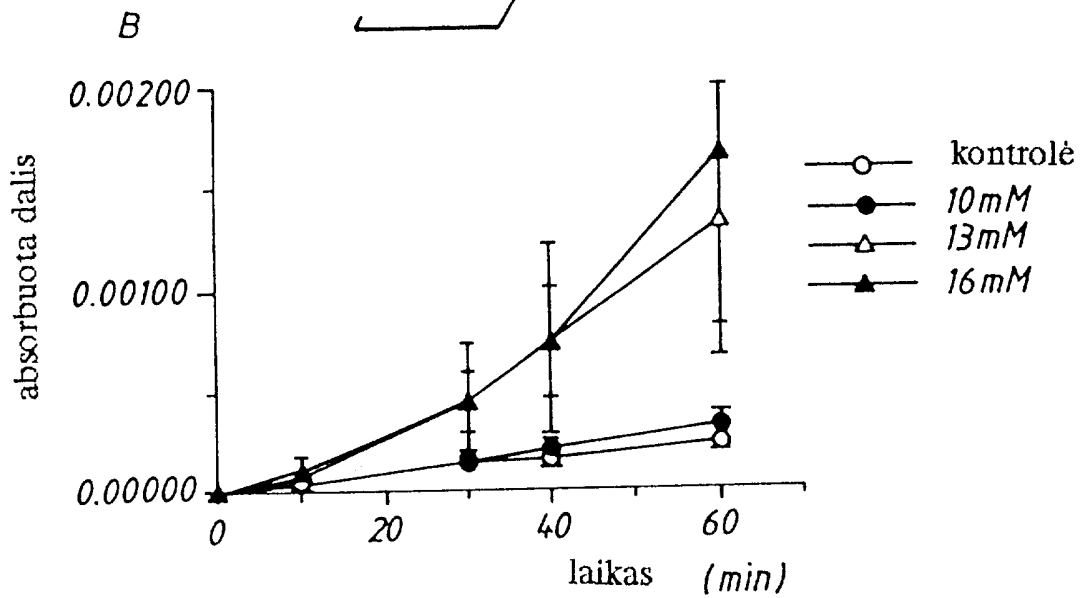


Fig. 2



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)

