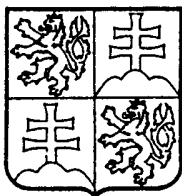


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU (12)

(21) 01361-91.M

(13) A3

5(51) A 61 K 47/10

(22) 08.05.91

(32) 10.05.90, 30.08.90

(31) 90/1170, 90/2075

(33) DK, DK

(40) 15.04.92

(71) Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, DK

(72) Bechgaard Erik, Hellerup, DK
Gizurarson Sveinbjörn, Keflavik, IS
Hjortkjaer Rolf Kühnman, Humlebaek, DK

(54) Farmaceutický prostředek

(57) Farmaceutický prostředek pro podávání biologicky účinných látek sliznicovou membránou savců obsahující alespoň jednu látku volenou ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I, kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II $H(OCH_2CH_2)_p OH$, kde znamená p 1 až 14 stejně rychle nebo rychleji než i.v. podáním.

Farmaceutický prostředek

Oblast techniky

vynález se týká farmaceutického prostředku pro podávání biologicky účinných látek savcům sliznicovou membránou.

Dosavadní stav techniky

Podávání biologicky účinných látek vstříkáním /intravenózně, intramuskulárně a subkutánně/ se zpravidla považuje za nejvhodnější způsob podání, jestliže se má dosáhnout rychlého a silného systémového účinku, například v průběhu 3 až 5 minut a jestliže se účinná látka neabsorbuje nebo je neúčinná v gastrointestinálním traktu nebo prostřednictvím prvního hepatického metabolismu. Avšak podávání vstříkáním je spojeno s četnými nedostatky. Je potřeba sterilních stříkaček a může způsobit bolest nebo podráždění, zvláště v případě opakovaného podání vstříkáním včetně nebezpečí infekce. Kromě toho vstříkání nemohou provádět neškolené osoby.

Intranasálnímu podání se v současné době věnuje zvláštní pozornost jakožto možnosti vyhnout se nepříjemnostem, způsobeným přímým zasahováním do organismu při parenterálním podávání. Kromě toho se tohoto způsobu podání může vhodně používat jako alternativy parenterálního vstříkání, když je zapotřebí rychlého účinku a může ho provádět i nezaškolená osoba.

Aby bylo intranasální podání akraaktivní alternativou za vstříkání, musí nabízet podobný vztah dávky ke koncentraci v pšasmě, a nesmí působit bolest nebo podráždění ošetřovanému jedinci ani nesmí nenávratně poškozovat nebo dráždit nosní sliznici. Avšak v případě ošetření při akutním ohrožení zdraví je i poměrně vysoké místní podráždění sliznice přípustné.

Nasální podání biologicky účinné látky musí být na nosní sliznici za takových podmínek, aby bylo zajištěno penetro-

vání nebo absorpce nosní sliznicí, pro penetraci sliznicí musí být nosič kompatibilní se sliznicí, a proto musí mít určitý způsob hydrofilicity. Nosič má mít však současně lipofilní vlastnosti, aby rozpouštěl fyziologicky účinné množství určitých biologicky účinných látek.

Rozsáhlé sesíťení krevních kapilár pod nosní sliznicí je obzvláště vhodné k rychlé a účinné systemové absorpci drog. Kromě toho nosní epitheliální membrána sestává prakticky z jediné vrstvy epitheliálních buněk /pseudostatifiované epithelium/ a je proto vhodnější pro podávání drogy než jiné sliznicové povrchy mající šupinaté epitheliální vrstvy, jako je sliznice ústní nebo vaginální. Tyto povrchy jsou však také vhodné pro podávání biologicky účinných látek za použití systému uvolňujícího drogu podle vynálezu.

Účinná nasální absorpce se považuje za velmi malou, pokud není účinná látka dostupná ve formě rozpustné ve vodě /Proctor, 1985/. Toto konstatování klade závažné meze použití biologicky účinných látek, které musí být rozpustné ve vodě a stále ve formě vodných roztoků.

Velký počet biologicky účinných látek včetně drog /například benzodiazepiny/, vitaminů a vakcin má omezený stupeň rozpustnosti ve vodě a velmi často není možno rozpustit klinicky odpovídající množství v poměrně malém objemu, který přichází v úvahu při intranasálním podávání.

Pro kapalně prostředky je důležité, že účinné množství alespoň jedné biologicky účinné látky se může rozpouštět v objemu menším než je přibližně 300 μ l. Větší objem může být nepříjemný pro ošetřovaného a vytlačuje se ven nosními dírkami nebo směrem do hltanu. Tím se však část účinné látky ztrácí z místa účinné absorpce a v praxi je nemožné reprodukovatelně podávat správnou dávku. Objem u dospělých lidí je s výhodou přibližně 1 až přibližně 1000 mikrolitrů a především 50 až přibližně 150 mikrolitrů na nosní díрку.

Sliznicové epithelium nosní dutiny je pokryto četnými vláskovitými chloupky, které představují důležitý obranný

mechanismus pro savce proti vdechovanému prachu, alergenům a mikroorganismům. Normální poločas neabsorbovaných látek podaných do nosní dutiny je přibližně 15 minut v důsledku čistícímu působení hlenů k odstraňování cizích částic a nadbytečných hlenů směrem k hltanu. Z tohoto důvodu je výhodné, aby k absorpci docházelo rychle a s výhodou v průběhu 1 až 20 minut.

Byly vyvinuty nejrůznější nosičové systémy pro nasální uvolňování biologicky účinných látek. Až dosud se v literatuře uvádělo, že přijímání biologicky účinných látek z nosní sliznice je možné včleňováním speciálního nosičového systému do prostředí nebo přísadou určitých činidel, podporujících absorpci.

Lau a Slattery /1989/ studovali absorpční charakteristiky diazepamu a lorazepamu při intranasálním podávání pro ošetřování status epilepticus. K solubilizaci těchto drog se volilo nedráždivé povrchově aktivní činidlo, polyoxyetylovaný ricinový olej jakožto nejméně dráždivé z četných studovaných rozpouštědel včetně polyethylenglykolu 400. Absorpce diazepamu byla 84 a 72 % v případě dvou dospělých lidí, podle měření v průběhu 60 hodin. Avšak vrchol koncentrace nebyl pozorován až do 1,4 hodin po nasálním podání a byl pouze přibližně 27 % se zřetelem na intravenózní podání, což indikuje, že ke hlavní absorpci by pravděpodobně došlo po odvěčení zkoušné látky do hltanu a po jejím spolknutí. Podobné výsledky jsou také pro lorazepam, který vykazuje vrchol po ještě delší době /2,3 hodiny/. Autoři usoudili, že intranasální cesta podání má omezenou účinnost pro akutní ošetřování epileptických stavů. /Publikováno v Intern. J. of Pharm. 54, str. 171-174/

Wilton a kol. / "Preanaesthetic sedation of preschool children using intranasal midazolam", Anesthesiology 69, str. 972 až 975, 1988/ popisují podávání midazolamu 45 dětem pro dosažení preanestetického uklidnění. Používané objemy byly velmi nepraktické a překračovaly maximální objem potřebný pro účinné podání, což vedlo ke kýchání a vypuzení části dávky. Nepopisuje se však používaný nosič.

Mezinárodní zveřejněná přihláška vynálezu číslo WO

86/04233 popisuje farmaceutický prostředek, přičemž je droga /například diazepam/ rozpuštěna ve směsi hnacího prostředku a korozpouštědla, jako je například glycerolfosfatid. Tato hmota však vyžaduje tlakový systém a alespoň jeden halogenovaný uhlovodík jako hnací prostředek aerosolu.

Morimoto a kol. /"Nasalaabsorption of nifedipine from gel preparations in rats", Nasální absorpce nifedipinu z gelových prostředků v případě krys, Chemical and Pharmaceutical Bulletins, 35, č. 7, str. 3041 až 3044, 1987, studovali gelový prostředek pro nasální podání v případě krys nifedipin obsahujícího gelového činidla karbopol /polyakrylová kyselina/ v polyethylenglykolu 400 /PEG 400/ k dosažení prodlouženého působení a vysoké biologické dostupnosti drogy. Směs stejných množství karbopolu a PDE 400 je výhodná. Ukázalo se, že nasální podání vykazuje vyšší biologickou dostupnost nifedipinu než perorální podání, avšak vrchol koncentrace v plasmě byl pozorován až za 30 minut a využití bylo toliko rovné nebo menší než 10 % ve srovnání s intravenózním podáním.

Dánská zveřejněná přihláška vynálezu číslo 2586/87 popisuje farmaceutický prostředek obsahující protizánětlivý steroid, vodu a toliko objemově 2 až 10 % propylenglykolu, 10 až 25 % polyethylenglykolu 400 a objemově 1 až 4 % Tween 20.

Americký patentový spis číslo 5 153689 popisuje princip získání stálého vodného roztoku insulinu, určeného pro nasální podání. Má hodnotu pH 2,5 až 4,7 a obsahuje hmotnostně 0,1 až 20 % stabilizačního činidla voleného ze souboru zahrnujícího /A/ alespoň jedno neiontové povrchově aktivní činidlo s hydrofilní lipofilní vyváženou hodnotou v oboru 9 až 22, /B/ stabilizační činidlo volené z polyethylenglykolů o molekulové hmotnosti 200 až 7500 a /C/ směsi shora uvedených stabilizačních činidel podle /A/ a /B/.

Mezinárodní zveřejněná přihláška vynálezu číslo 90/02737 popisu nasální podávání benzodiazepinových hypnotik ve farmaceuticky vhodném nasálním nosiči. Nosičem může být solankový roztok, alkohol, glykoether nebo jejich směs. Nikde se neuvádí, že by přítomnost glykolu nebo glykoetheru mohla dodávat speciální přednosti prostředku, ani že by byla

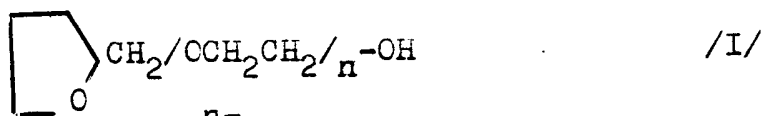
jejich přítomnost pro prostředek rozhodující.

Jiné prostředky pro intranasální nebo podjazykové podávání jsou popsány v americkém patentovém spise číslo 4 746508, přičemž se podává insulin za použití fusidické kyseliny a jejich derivátů jakožto promotorů absorpce a v mezinárodní zveřejněné přihlášce vynálezu číslo WC 87/05210 se popisuje pod jazyk vstřikovatelný farmaceutický prostředek, obsahující popřípadě PEG a vyžadující ethanol, diglycerid a/nebo triglycerid mastné kyseliny a farmaceuticky vhodný hnačící plyn.

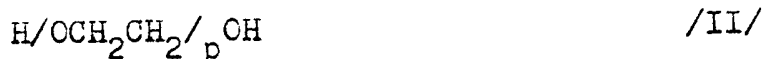
Hlavním úkolem tohoto vynálezu je vyvinout farmaceutický prostředek pro podávání biologicky účinné látky sliznicí savců, přičemž by prostředek mohl vytvářet vysokou koncentraci v plasmě farmaceuticky účinné látky téměř tak rychle jako při intravenosním podání bez doprovodných nepříjemných účinků na sliznici.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je farmaceutický prostředek pro podání biologicky účinné látky nebo biologicky účinných látek sliznicovou membránou savců, který obsahuje jednu nebo několik látek ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I



kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14.

Vynález se týká provedení, kdy n-glykoly obecného vzorce II mají p rovno 1 až 8 v případě, že není obsažen žádný glykofurol a biologicky účinnou látkou je benzodiazepin.

Podle výhodného provedení vynálezu se používá n-glykolů obecného vzorce II, kde p znamená 1 až 8 a především tetra-

ethylen glykolu.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu obsahují s výhodou n-glykofuroly obecného vzorce I, kde znamená n 1 nebo 2.

Podle vynálezu je výhodným prostředek farmaceutický, který obsahuje jeden nebo několik n-glykofurolů a popřípadě jeden nebo několik n-ethylen glykolů.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu může obsahovat biologicky účinnou látku volenou ze souboru zahrnujícího adrenální hormony, kortikosteroidy a deriváty jako ACTH a analogy, tetrakosaktrin, alsaktid, kortison, kortisonacetát, hydrokortison, hydrokortisonalkohol, hydrokortisonacetát, hydrokortisonhemisukcinát, prednisolon, prednisolonterbutát, 9 α -fluorprednisolon, triamcinolonacetonid, dexamethasonfosfát, flunisolid, budesonid, tosikorolpivalát atd; aminokyseliny; anorektika, jako například benzfetaminhydrochlorid, chlorfenterminhydrochlorid; antibiotika, jako například tetracyklinhydrochlorid, tyrothricin, cefalosporin, aminoglykosidy, streptomycin, gentamycin, leukomycin, penicilin a jeho deriváty, erythromycin; antialergicky účinné látky; protilátky například monoklonální nebo polyklonální protilátky proti infekčním nemocem; anticholinergická činidla, jako například atroninová báze; antidepresanty například amitriptylinhydrochlorid, imipraminhydrochlorid; antiemetika například neuroleptika jako metopimazin, antihistaminy například thienylperazin nebo antiemetika mající regulační působení na střevní pohyb jako domperidon; antiepileptika a antispasmodika, například clonazepam, diazepam, nitrazepam, lorazepam; antihistaminika a histaminické prostředky, například difenhydraminhydrochlorid, chlorfeniraminmaleát, clemastin, histamin, profenpyridaminmaleát, chlorprofenpyridaminmaleát, dvojsodný kromoglykát, meclizin; antihypertenzivní činidla například clonidinhydrochlorid; protizánětlivá činidla /enzymatická/ například chymotrypsin, bromelainseratiopeptidasa; protizánětlivá činidla /nesteroidální/, například acetaminofen, aspirin, aminopyrin, fenylbutazon, mefenamová kyselina, ibupro-

fen, diklofenaknatrium, indomethacin, kolchicin, probenocid; protizánětlivá činidla /steroidální/ například hydrokortison, prednison, fluticason, predonisolon, triamcinolon, triamcinolonacetamid, dexamethason, betamethason, beclomethason, beclomethasondipropionát; antineoplastická činidla například aktinomycin C; antiseptika například chlorhexidinhydrochlorid, hexylresorcinol, dequaliniumchlorid, ethakridin; protinádorová činidla; prostředky proti kašli /astmatická činidla/, jako je například natriumkromoglykát, kodeinfosfát, isoprotetereolhydrochlorid; antivirální a antikancerogenní činidla, jako jsou například interferony /například Alpha-2 interferon pro ošetřování nachlazení/, fenyl-p-guanidinbenzoát, enviroxim; β -adrenergická blokující činidla, jako je například propranololhydrochlorid; krevní faktory například faktor VII, faktor VIII; činidla řídící metabolismus kostí například vitamin D₃, aktivní vitamin D₃; bronchodilatátory například clenbuterolhydrochlorid, bitolterolmesylát; kardiotonika například digitalis, digoxin; kardiovaskulární regulační hormony, drogy a deriváty, například bradykinové antagonisty, atriální natriuretický peptid a deriváty, hydralazin, angiotensin II antagonist, nitroglycerin, nifedipin, isosorbiddinitrát, propranolol, clofiliumtosylát; chemoterapeutická činidla, například sulfathiazol, nitrofurazon; CNS-stimulanty například lidokain, kokain; kortikosteroidy, například lacikorton, hydrokortison, fluocinolonacetamid, triamcinolonacetamid; diagnostické drogy, například fenosulfonftalein, barvivo T-1824, vitální barviva, ferrokyanid draselný, sekretin, pentagastrin, cetulein; dopaminergická činidla, například bromokriptinmexylát; enzymy například lysozymchlorid, dextranasa, gastrointestinální hormony a deriváty, například sekretin, substance P; hypothalmové hormony a deriváty, například LHRH a analogy /například nafarelin, buserelin zolidex/, enkefaliny /DADLE, metkefamid, leucinenkefalin/, TRH /thyrotropin uvolňující hormon; hypotensiva; lokální anestetika například benzokain; látky k ošetřování migrény například dihydroergotamin, ergometrin, ergotamin, pizotizin; narkotika, antagonis-

ty a analgetika například buprenorfin, naloxon; pankreatové hormony a deriváty, například insulin /hexamerční/čimerní/monomerní forma/, glukagon; parasymphomimetika například nikotin, methacholin; parasympholytika, například scopolamin, atropin, ipratropium; látky k ošetřování Parkinsonovy nemoci například apomorfin; hormony slizových žláz a deriváty, například růstový hormon /lidský/, vasopresin a analogy /DDAVP, lyspressin/, oxytocin a analogy; prostaglandiny, například PGA a deriváty, PGE a deriváty, PGE₂ a deriváty, PGF₁ a deriváty, dinoprost trometamol; inhibitory proteasy například aprotinincitrát nebo α_1 -antitrypsin; sedativa například alprazolam, bromazepam, brotizolam, kamazepam, chlordiazepoxid, clobazam, chlorazopová kyselina, klonazepam, klothiazepam, kloxadolam, delorazepam, diazepam, estazolam, ethylloflazepát, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, halazepam, haloxazolam, ketazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, oxazepam, oxazolam, pinazepam, prazepam, temazepam, tetrazepam, tofisopam, triazolom; sexuální hormony například ethinyloestradiol, levonorgestrel, FSH, LH, LTH, estradiol-17-beta, progesteron, norethindron, testosteron; sympthomimetika, například efedrin, epinefrin, fenylefrin, xylometazolin, tramazolin, dopamin, dobutamin; hormony štítné žlázy a jejich deriváty, jako například kalcitoniny a jejich syntetické modifikace; uklidňovací prostředky, například alprazolam, bromazepam, brotizolam, kamazepam, chlordiazepoxid, kloxadolam, chlorazepová kyselina, klonazepam, klothiazepam, kloxadolam, delorazepam, diazepam, estazolam, ethylloflazepát, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, hlazepam, haloxazolam, ketazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, medazepam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, nordiazepam, oxazepam, oxazolam, pinazepam, prazepam, temazepam, tetrazepam, tofisopam, triazolam; vakcíny například vakcíny AIDS, virus influenza, virus parainfluenza, measles, polio, thiovirus typ 13, respirační virus syncytiální; vazokonstriktory například fenylefrinhydrochlorid, tetrahydrozolinhydrochlorid, nafazolinnitrat, oxymetazolinhydrochlorid, tramazolinhydro-

chlorid; vasodilatátory například nitroglycerin, papaverinhydrochlorid, látka P, VOP /vasoaktivní intestinální peptid/; vitaminy například vitamin-B₁₂, kyselina folová a nikotinamid.

Prostředek podle vynálezu obsahuje podle výhodného provedení biologicky účinnou látku ze souboru zahrnujícího adrenální hormony, kortikosteroidy a jejich deriváty, aminokyseliny, anorektika, antibiotika, antialergické látky, anticholinergické látky, antidepresanty, antidoty, antiepileptika, antihistaminika a histaminika, antihypersensitiva, protizánětlivá činidla /enzymatická, nesteroidální a steroidální/, antineoplastická činidla, antiseptika, protinádorová činidla, prostředky proti kašli /astmatická činidla/ antivirální a protirakovinová činidla, beta-adrenergická blokovácí činidla, krevní faktory, činidla řídící kostní metabolismus, bronchodilatátory, kardiotonika, kardiovaskulátorové hormony, drogy a jejich deriváty, chemoterapeutická činidla, CNS-stimulanty, kortikosteroidy, diagnostické drogy, dopaminergická činidla, enzymy, fibrinolytika, GABA antagonisty, gastrointestinální hormony a jejich deriváty, glutamátové antagonisty, glycinové antagonisty, hypothalmové hormony a jejich deriváty, hypotensiva, lokální anestetika, látky k ošetřování migrény, narkotika, antagonisty a analgetika, hormony pankreatu a jejich deriváty, parasymphomimetika, parasympholytika, hormony slizových žláz a jejich deriváty, prostaglandiny, sedativa, sexuální hormony, spasmolytika, symptomimetika, hormony štítné žlázy a jejich deriváty, uklidňovací prostředky, vakciny, vazokonstriktory, vasodilatátory a vitaminy.

Podle jiného výhodného provedení vynálezu obsahuje prostředek podle vynálezu alespoň jednu biologicky účinnou látku volenou ze souboru peptidů, které se stravují ve střevním traktu.

Podle jiného velmi výhodného provedení vynálezu je biologicky účinná látka volena ze souboru zahrnujícího koagulační faktory, jako faktor VII, faktor VIII, faktor IX a jejich deriváty a analogy; činidla, řídící metabolismus v kostech,

například vitamin D₃, aktivní vitamin D₃, kalcitonin a jejich deriváty a analogy; hormony vylučované hypothalamem například LHRH nebo jeho analogy, například nafarelin, buserelin nebo Zolidex, enkefaliny jako DADLE mekefamid nebo leucinenkefalin, a TRH a jejich analogy a deriváty; hormony vylučované pankreas například insulin nebo glukagon a jejich deriváty a analogy; hormony vylučované podvěskem mozkovým, například růstový hormon, vasopressin nebo oxytocin a jejich deriváty a analogy, například DDAVP nebo lypressin; sexuální hormony například ethylestradiol, levonorgestrol, FSH, LH, LTH estradiol-17 β , progesteron, norethindron nebo testosteron a jeho deriváty a analogy; a uklidňovací prostředky například alprazolam, bromazepam, brotizolam, kamazepam, chlordiazepoxid, klobazam, chlorazepová kyselina, klonazepam, klotiazepam, kloxazolam, delorazepam, diazepam, estazolam, ethylloflazepát, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, halazepam, haloxazolam, ketazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, medazepam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, nordiazepam, oxazepam, oxazolam, pinezepam, prazepam, temazepam, tetrazepam, tofisopam nebo triazolam a jejich soli a deriváty a analogy.

Podle jiného výhodného provedení vynálezu je biologicky účinná látka volena ze souboru zahrnujícího koagulační faktory jako faktor VII, faktor VIII, faktor IX a jejich deriváty a analogy; činidla řídící metabolismus v kostech, jako je například kalcitonin a jeho deriváty a analogy; hormony vylučované hypothalamem, například LHRH nebo jeho analogy, například nafarelin, buserelin nebo Zolidex, enkefaliny, například DADLE, mekefamid nebo leucinenkefalin; hormony, vylučované pankreas, například insulin nebo glukagon a jejich deriváty a analogy; hormony vylučované hypofyzou, jako růstový hormon, vasopressin nebo oxytocin a jejich deriváty a analogy, například SSAVP nebo lypressin; sexuální hormony například FSH, LH nebo LTH a jejich deriváty a analogy.

Prostředek podle vynálezu má zvláštní význam, při podávání účinné látky, kterou je biologicky účinný peptid, který se vstřebává v gastrointestinálním traktu, jako je insulin, glu-

kagen, růstový hormon nebo jako jsou růstové faktory podobné insulinu nebo jejich deriváty nebo analogy.

Podle dalšího velmi výhodného provedení vynálezu je účinnou látkou pankreatický polypeptidový hormon, například glukagen nebo jeho derivát nebo analog.

Podle opět jiného velmi výhodného provedení vynálezu je účinná látka ze souboru zahrnujícího antiepileptika, spasmolytika a uklidňovací prostředky ze souboru zahrnujícího benzodiazepiny, například klonazepam, diazepam, flunitrazepam, triazolam, lorazepam, nitrazepam nebo jejich směsi.

Účinná látka má být obsažena v množství hmotnostně 0,0001 až 50 %, vztaženo na prostředek jako celek, s výhodou ve hmotnostním množství 0,001 až 20 %, například v případě benzodiazepinů.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu může dále obsahovat kyselinu dusičnou a/nebo dusičnan v koncentraci hmotnostně 0,0001 až 5 %. Takováto složka může působit jako stabilizátor pro účinnou látku, jako je klonazepam.

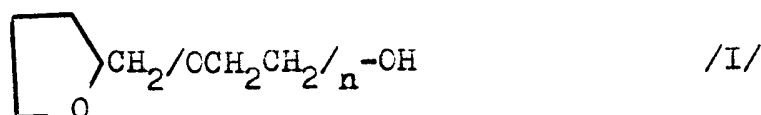
Podle vynálezu mohou farmaceutické prostředky přídatně obsahovat jednu nebo několik sloučenin ze souboru zahrnujícího povrchově aktivní činidla, promotory absorpce, polymery absorbující vodu, mikrokuličky, oleje, emulze, liposomy, látky inhibující enzymatický rozklad, alkoholy, organická rozpouštědla, vodu, hydrofobní činidla, činidla řídící hodnotu pH, konzervační přísady a činidla řídící osmotický tlak, cyklodextriny a hnací prostředky nebo směsi uvedených látek.

S výhodou je vodu absorbujícím polymerem polyethylen-glykol o střední molekulové hmotnosti 200 až 7500 nebo propylenglykol nebo jejich směsi.

Podle výhodného provedení vynálezu obsahuje farmaceutický prostředek více než 50 % /hmotnost/hmotnost/ polyethylen-glykolu o střední molekulové hmotnosti 200 až 1000 a/nebo propylenglykol nebo jejich směs.

Vynález se také týká způsobu ošetřování savců biologicky

účinnou látkou, přičemž se biologicky účinná látka nanáší na sliznicovou membránu savců spolu s jednou nebo s několika látkami ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I

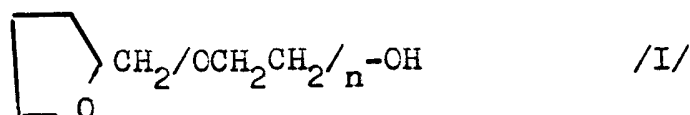


kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14.

Vynález se také týká použití farmaceutického prostředku obsahujícího biologicky účinnou látku a jednu nebo několik látek ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I



kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14 pro aplikaci na sliznicovou membránu.

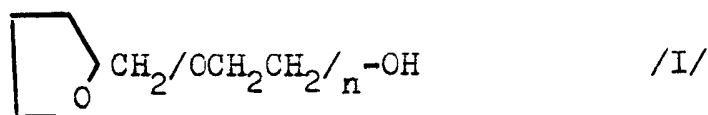
Sliznicovou membránou, na kterou se farmaceutický prostředek podle vynálezu nanáší, může být jakákoliv sliznicová membrána savců, na kterou se nanáší biologicky účinná látka, například nosní, poševní, oční, ústní, genitálního traktu, plicní, gastrointestinálního traktu nebo rektální, s výhodou však nosní, vaginální a ústní.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu se mohou podávat ve formě kosočtverečků, které se vkládají do úst nebo ve formě pastilek pod jazyk nebo ve formě ústních nebo nosních sprejů jakožto roztoky, suspenze nebo prášky, popřípadě s různými látkami podporujícími absorpci nebo především ve formě

mírně viskozních roztoků, které jsou bioadhesivní nebo popřípadě ve formě čípků do pochvy.

Podle výhodného provedení se prostředky podle vynálezu nanášejí na nosní sliznici.

Vynález se rovněž týká způsobu výroby farmaceutického prostředku pro podávání biologicky účinné látky prostřednictvím sliznicové membrány savců, který obsahuje jednu nebo několik látek ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I



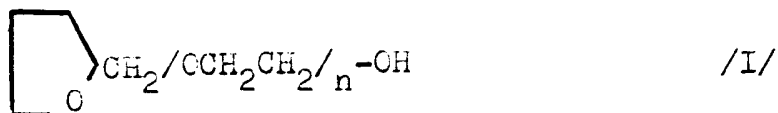
kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14, přičemž je biologicky účinná látka rozpuštěna v připraveném nosiči, obsahujícím část nebo všechny zbylé složky farmaceutického prostředku. Způsob se může provádět za využití ultrazvuku a/nebo při zvýšené teplotě. S výhodou se rozpouštění provádí za zvýšené teploty za zahřívání na 30 až 100 °C, přičemž se bere zřetel na tepelnou citlivost účinné látky. Pro velmi citlivé účinné látky, jako jsou například lidské růstové hormony, se využívá pouze mírného míchání nebo protřepávání.

Vynález se také týká systému pro řízené uvolňování při intranasální aplikaci, který obsahuje nevodný nosič, který je biokompatibilní se sliznicí a který je schopen rozpouštět požadované množství biologicky účinných látek v malých objemech.

Vynález se dále ještě týká použití jedné nebo několika látek ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I



kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykoly obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14 pro farmaceutické prostředky pro podávání biologicky účinných látek savcům prostřednictvím nosní membrány.

Podle tohoto hlediska vynálezu je výhodné připravovat farmaceutické prostředky pro systémové podávání prostřednictvím sliznice nosní, ústní nebo poševní a především prostřednictvím sliznice nosní.

n-Glykofurany obecného vzorce I se považují za farmaceuticky vhodný nosič zvláště za farmaceuticky vhodný nosič prostředků pro nosální podání. n-Glykofurany obecného vzorce I jsou považovány za nosiče, které usnadňují přijímání biologicky účinné látky sliznicovou membránou savců, zvláště nosní sliznicí.

Řešení podle vynálezu umožňuje normalizovat například hladinu glukosy v krvi u jedinců, kteří trpí abnormalitami v metabolismu cukrů, jako je hypoglykemie nebo hyperglykemie, dodáváním glukagenu nebo insulinu nebo jejich analogu nebo derivátu velmi snadným a spolehlivým způsobem.

Kromě toho řešení podle vynálezu umožňuje velmi vhodné podávání prostředků řídících metabolismus kostí, jako vitamínu D₃ nebo kalcitoninu a jejich derivátů a analogů; hormonů, vylučovaných hypothalamem, jako je LHRH například nafarelinu, buserelinu nebo zolidexu a jejich derivátů a analogů; hormonů regulujících růst nebo mitogenní růstové faktory, jako jsou například somatropin, IGF-1, IGD-2, FGF, PDGF, EGF a jejich analogů a derivátů; proteasových inhibitorů, například apro-tinincitrátu nebo α₁-antitrypsinových derivátů a jejich analogů; a cytocholinů, například IL-1 a IL-2 k normalizaci jejich hladiny v krvi v případě jejich nedostatku.

Obzvláště výhodným v nosiči podle vynálezu je glykofurol 75 /GF/, který se uvádí jako obecně dostupná rozpouštědla

polymerů shora uvedeného obecného vzorce I, kde n znamená hlavně 1 nebo 2 /Chemical Abstracts, registrace číslo [9004 76-61_7]. Glykofurol 75 je bezbarvá kapalina mísitelná s vodou, s alkoholy, například s methanolem, ethanolem, n-propanolem, glycerolem a s různými oleji ve všech dílech a má teplotu tání přibližně 155 °C. GF údajně způsobuje podráždění při použití v prostředcích pro parenterální podání v nezředěné formě, jak uvádějí Spiegel a Nosewothy /"Use of nenaqueous solvents in parenteral products" Použití nevodných rozpouštědel v parenterálních prostředcích, Journal of Pharmaceutical Sciences, říjen, 1963, svazek 52, číslo 10, str. 907 až 927/. Bylo také publikováno, že je netoxický a nedráždivý při zředění vodou /Spiegelberg a kol. /"Ein neues injizierbares Lösungsmittel /glycofurol/", Nové, vstřikovatelné rozpouštědlo /glykofurol/, Arzneimittelforschung, 6, str. 75 aý 77/.

Jakožto n-polyethylenglykoly, používané podle vynálezu, se příkladně uvádějí monoethylenglykol /1EG/, diethylenglykol /2EG/, triethylenglykol /3 EG/, tetraethylenglykol /4EG/, pentaethylenglykol /5EG/, hexaethylenglykol /6EG/, heptaethylenglykol /7EG/, oktaethylenglykol /8EG/, nonaethylenglykol /9EG/, dekaethylenglykol /10EG/, undekaethylenglykol /11EG/, dodekaethylenglykol /12EG/, tridekaethylenglykol /13EG/ a tetradekaethylenglykol /17EG/. Ethylenglykolů se může používat ve formě jednotlivé sloučeniny nebo ve formě směsi dvou nebo několika n-ethylenglykolů, například obchodních produktů, jako je polyethylenglykol 200 /PEG 200/ nebo polyethylenglykol 400 /PEG 400/.

Polyethylenglykoly 1EG až 14EG jsou bezbarvé kapaliny mísitelné s vodou a s alkoholy ve všech podílech. PEG 200 je obchodně dostupná směs ethylenglykolů o střední molekulové hmotnosti přibližně 200. Složení je uvedeno v následující tabulce I:

Tabulka I: složení PEG 200

monoethylenglykol	0,1 %
diethylenglykol	3,4 %
triethylenglykol	21,2 %
tetraethylenglykol	31,2 %

pentaethylenglykol	24,4 %
hexaethylenglykol	14,0 %
heptaethylenglykol	5,4 %
oktaethylenglykol	<u>0,3 %</u>
	100,0 %

n-Ethylenglykoly a glykofuroly jsou dostupné v různých kvalitách. Obzvláště výhodné jsou vysoce čisté produkty, jako je například 4EG společnosti Fluka-Chemie AG /Buchs, Švýcarsko, číslo 86660, 1990/, označovaný jako 4EGf.

Uvolňovací systém podle vynálezu může být optimalizován například se zřetelem na biopřílnavost, rozprašovatelnost nebo viskozitu. Například GF v koncentraci toliko 5% má překvapivě kladné působení na stříkatelnost například 4EGf snížením viskozity. Kromě toho přísada 5 % GF je schopna snižovat teplotu tuhnutí z -10 na méně než -20 °C nebo na 20 °C. To je důležité v takových případech, kdy osoba nosí prostředek u sebe, aby byl stále připraven k použití.

Farmaceutického prostředku podle vynálezu se může používat k ošetřování, domácích zvířat nebo s výhodou lidí.

Speciální výhodou použití nosičového systému podle vynálezu je například vysoká lipofilicita látky, takže se může benzodiazepin, jakož také ve vodě rozpustné látky, například peptidy a bílkoviny, jako pankreatické hormony solubilizovat v klinicky odpovídajícím množství pro lidi, například již v 25 až 300 μ l nosiče. Ve vodných roztocích klinicky odpovídajících dávek diazepamu a klonazepamu je rozpuštěna v přibližně 5000 $\frac{ml}{\mu$ l více než 10 ml.

Nosičového systému podle vynálezu se může používat ve směsi s různými korozpouštědly, jako je rostlinný olej například Miglyol 840 /Dynamit Nobel Chemie, Troisdorf, Německo/, nebo popřípadě hydrogenovaný nebo ethoxylovaný ricinový olej, který s překvapením zvyšuje možnosti ovlivnit řízené uvolňování prostředku, například diazepamu, čímž se vyloučí píkovaná koncentrace v plesmě.

Prostředek podle vynálezu může obsahovat přídavné excipienty jako například: povrchově aktivní činidla, promotery absorpce s hydrofilně lyofilní rovnováhou přibližně 6 až 26, aniontová a neiontová povrchově aktivní činidla včetně polyoxyethylenalkoholetherů, žlučové soli a jejich deriváty, fusidovou kyselinu a její deriváty, kyselinu olejovou, lecithin, lysolecithin nebo Tween 20 až 85; vodu absorbující polymery, například polyethylenglykol 200 až 7500, polyvinylpyrrolidon, propylen-glykol nebo polyakrylovou kyselinu, želatinu, celulózu a její deriváty; látky, které inhibují odbourání enzymů, jako je například citrát nebo aprotinin; alkoholy, například ethanol, glycerol nebo benzylalkohol; organická rozpouštědla, například ethylacetát nebo benzylalkohol; hydrofobní činidla například rostlinný olej jako sojový olej, podzemnicový olej, kokosový olej, kukuřičný olej, olivový olej, slunečnicový olej, ricinový olej, Miglyol 810/812/840 nebo jejich směs; činidla upravující hodnotu pH, jako je například kyselina dusičná, fosforečná, nebo octová, citrát; konzervační přísady a prostředky pro řízení osmotického tlaku, například glycerol, chlorid sodný, methylprooxybenzoát nebo kyselina benzoová; práškové látky například α -, β - a γ -cyklodextriny, celulóza a její deriváty; mikrokuličky, liposomy a emulzní hmoty například škrob, albumin, želatina nebo lecitiny nebo lysolecitiny; mikropuzdřové prostředky; hnací plyny jako butan; voda. Použití alkoholů nebo hnacích prostředků není v prostředcích podle vynálezu nezbytné.

Vynález blíže objasňují připojené obrázky: na obr. 1 je graf znázorňující nejvyšší koncentraci v plasmě clonazepamu po intravenózním podání a při intranasálním podání prostředku podle vynálezu; na obr. 2 je blokový diagram střední doby odezvy jako funkce obsahů glykofurolu v prostředku podle vynálezu; na obr. 3 je grafické znázornění hladiny glukosy v krvi po podání insulinu při způsobu podle vynálezu; na obr. 4 je graf hladiny glukosy v krvi po podání glukagonu podle vynálezu; na obr. 5 je graf koncentrace clonazepamu v plasmě po podání prostředku obsahujícího různé ethylenglykolové

složky; na obr. 6 je graf střední hladiny diazepamu v krvi po podání prostředků obsahujících glykofurol a různá korozpouštědla; na obr. 7 je graf vlivu různých složek glykofurolu v prostředcích podle vynálezu; na obr. 8 je graf porovnávající hladinu flunitrazepamu v krvi po podání intravenosním a intranasálním podle vynálezu; na obr. 9 je graf porovnávající hladinu v plasmě klonazepamu po podání intravenosním a intranasálním podle vynálezu; na obr. 10 je graf ukazující stabilitu klonazepamu v různých pojidlech; na obr. 11 je graf porovnávající koncentraci estrogenu v plasmě po intravenosním podání a po intranasálním podání podle vynálezu a na obr. 12 je graf porovnávající koncentraci estrogenu v plasmě po intravenosním podání a po intranasálním podání estrogenu podle vynálezu.

Vynález také podrobně objasňují příklady praktického provedení, které však vynález nijak neomezují.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Studium toxicity a přijatelnosti posičů podle vynálezu

Při toxikologickém hodnocení nosiče je třeba posuzovat místní a také systemické působení po absorpci. Jakožto excipientu použito GF a PET 400 ve vstřikovacích prostředcích, kde je podávané množství větší než 300 μ l na dávku, což převyšuje množství podávané intranasálně za použití prostředku podle vynálezu.

Výsledky lokální toxicity pro nEG a GF po intranasálním podání nejsou v literatuře dostupné. Proto se prováděly příslušné zkoušky místní toxicity 30 až 100 μ l na nosní sliznici králíků. Při těchto zkouškách se také benzodiazepiny rozpouštěly v různých rozpouštědlových systémech podle vynálezu a 30 μ l prostředku se podávalo denně po 14 dní na nosní sliznici králíků. Posuzovalo se pět provedených zkoušek takto podaných prostředků, přičemž výsledky včetně kontrolní zkoušky jsou uvedeny v tabulce II:

Tabulka II

Posouzení místní toxicity benzodiazepinového prostředku podle
vynálezu.

Živočich počet/poh- laví	Skupina	čevá nosní dírka Zkoušený materiál	Doba/dny
1 m			
2	1		
3	kontrolní	30 μ l fyziolo- gického roztoku	1
4 f			
5			
6			
7 m			
8			
9	2	30 μ l D v PEG	1
10 f			
11			
12			
13 m			
14			
15	3	30 μ l L v PEG	1
16 f			
17			
18			
19 m			
20			
21	4	30 μ l F v PEG	1
22 f			
23			
24			
25 m			
26			
27	5	30 μ l F v PEG + GF	1
28 f			
29			
30			

Zkratky: m = sameček, f = samička, D = diazepam, 3 %, L = lorazepam 5 %, F = flunitrazepam 1 %, PEG = polyethylen-

glykol 200, GF = glykofurol 75, PEG + GF = 70 % PEG + 30 % GF.

Tabulka II /pokračování

Posouzení místní toxicity nosičů prostředků podle vynálezu

Živočich počet/po- hlaví	Skupina	pravá nosní dírka Zkoušený materiál	dobu/dny
1	m		
2			
3	A	100 /ul fyziologického	
4	f	kontrolní roztoku	3
5			
6			
7	m	B 30 /ul PEG	1
8		C 100 /ul PEG	1
9		D 100 /ul PEG	3
10	f	E 30 /ul PEG + GF	1
11		F 100 /ul PEG + GF	1
12		G 100 /ul PEG + GF	3
13	m	B 30 /ul PEG	1
14		C 100 /ul PEG	1
15		D 100 /ul PEG	3
16	f	E 30 /ul PEG + GF	1
17		F 100 /ul PEG + GF	1
18		G 100 /ul PEG + GF	3
19	m	E 30 /ul PEG + GF	1
20		F 100 /ul PEG + GF	1
21		G 100 /ul PEG + GF	3
22	f	B 30 /ul PEG	1
23		C 100 /ul PEG	1
24		D 100 /ul PEG	3
25	m	E 30 /ul PEG + GF	1
26		F 100 /ul PEG + GF	1
27		G 100 /ul PEG + GF	3
28	f	B 30 /ul PEG	1
29		C 100 /ul PEG	1
30		D 100 /ul PEG	3

Zkratky: m = sameček, f = samička, A = kontrola, PEG = polyethylenglykol 200, GF = glykofurool 75, PEG + GF = 70 % PEG + 30 % GF

Nosní dutina se zkouší histologicky a zjištěny jen mírné zánětlivé změny po podání prostředků podle vynálezu. Nebyla zjištěna žádná jasná odezva na dávku při zvyšující se dávce a nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi 100% PEG-200 a 70 % PEG-200 a 30 % GF. Zjištěno, že pojičila podle vynálezu mají pouze mírné nepříznivé toxické působení.

Zjišťována snášenlivost dvou zkoušených nosičů obsahujících tetraethylenglykol /4EGf/ a popřípadě 5 % glykofurolu /GF/ po intranasální aplikaci devíti zdravým dobrovolníkům a provedeno porovnání pomocí slepých zkoušek s nosiči obchodních názvů Locilan^R /Astra-Syntex Scandinavia AB, Södertälje, Švédsko/. Jako kontrolního roztoku použito solanky /roztok 0,9 % chloridu sodného/.

Solanka a nosič, kterým je obchodní produkt, se snášejí velmi dobře. Oba nosiče obsahující tetraethylenglykol vykazují s překvapením pouze mírnou dráždivost bezprostředně po vnesení. Symptomy jsou krátkodobě obtěžující, toto středně obtěžující působení trvá 10 minut po nanesení. Při nasoskopii 30 minut po aplikaci nejsou pozorovány žádné klinické symptomy.

Při uvažování všech uvedených skutečností se zjišťuje, že 4EGf obsahující nosič, obsahující popřípadě 5 % GF je přijatelný pro podávání důležitých biologicky účinných látek příležitostně používaných a že je výhodný pro intranasální podání v případě nosičů pro intravenosní podávání.

Podrobnosti a výsledky zkoušek jsou dále uvedeny:

Studium vhodnosti nosičů podle vynálezu pro lidi

Zkoušce se podrobilo 9 zdravých dobrovolníků. Žádný z nich netrpěl karciatickým, hepatickým nebo nefrologickým onemocněním a všichni byli zdraví.

Žádná z osob netrpěla pulmonárním nebo respiračním onemocněním a v posledních dvou týdnech neprodělala nachalzení. Vitální projevy /krevní tlak a puls/ u všech osob byly normální. Dva týdny před zkouškou se provedly standardní biochemické a hematologické zkoušky. Kromě dvou osob vykazovaly všichni klinické chemické hodnoty v rámci normálu. Osoby číslo 4 a 5 vykazovaly alaninaminotransferasu /SGPT/ nad normální hodnotou, tato skutečnost byla však posuzována jako bez klinického významu.

Postup zkoušky.- Provádí se dvojice slepých zkoušek se třemi zkoušenými nosiči a kontrolní zkouška /se solankou/ a tři stejná sezení vždy s 24 hodinami mezi každým sezením.

V průběhu každého sezení se vnáší kontrolní nosič do pravé nosní dírky 5 minut před vnesením zkoušeného nosiče do levé nosní dírky. Osoby zapisují do dotazníku každou potíž nebo podráždění, které pozorují 0 až 1 minuta po aplikaci a 10 až 30 minut po aplikaci zkušební nosiče. Při zaznamenání jakýchkoliv symptomů je uvedena závažnost a charakterizace takových symptomů.

Před aplikací nosiče a 30 minut po jeho aplikaci se nasoskopií zkoumá nosní sliznice obou nosních dírek.

Nosiče.- Zkouší se čtyři nosiče, přičemž jedním je solanka a používá se jí jako negativní kontroly. Další tři nosiče jsou dva zkoušené podle vynálezu /nosič A a B/ a jako "pozitivní kontrola" slouží velmi dobře snášený obchodní nosič Locilan^R /Nielsen a kol., 1989/.

Zařízení.- Pro aplikaci se používá Pfeifferova čerpadla /model 6917.5902/3790.0129/ uvolňujícího jednotkovou dávku 50 μ l.

Dávkování.- Nosiče se aplikují umístěním stříkací jednotky Pfeifferova čerpadla do levé /nebo do pravé/ nosní dírky přičemž se na čerpadlo působí tak, aby celková dávka byla 100 μ l.

Klinické vyšetření.- Při klinickém vyšetření nosní tkáně

nezjištěno žádné klinicky významné působení aplikovaného nosiče. U tří osob zjištěno mírné místní podráždění 30 minut po aplikaci nosiče; u jedné osoby jakožto nosiče použito solanky a v případě dvou osob použito nosiče B.

Chování jednotlivých osob ke zkoušeným nosičům /tabulka 3 až 5/.- Závažnost podráždění /symptomů/ v nosní dírce 0 až 1 minutu, 10 minut a 30 minut po aplikaci zkoušeného pojidla jsou shrnuty v tabulce 3, 4 a 5. Osoby uvádějí, že nosiče na bázi tetraethylglykolu obsahující popřípadě glykofurol se méně dobře snášejí než solanka nosiče Locilan^R. Avšak symptomy způsobené 4EGf obsahujícím nosičem jsou poměrně krátkodobě obtěžující a jsou považovány za přijatelné, jelikož biologicky účinné látky jsou důležité pro zdraví jedince.

Tabulka III

Snášení 0 až 1 minutu po aplikaci, jak se uvádí v dotazníku; počet osob vykazujících symptomy a jejich závažnost

Závažnost podráždění	Kontrolní /pravá nos- ní dírka/	Nosič		
		A	B	C
žádné podráždění	25	1	0	6
středně přijatelné	2	5	3	3
mírně závažné	0	3	6	0
nepřijatelné	0	0	0	0

A 4EGf nosič

B 5 % GF v 4EGf

C Locilan^R

kontrola /pravá nosní dírka/ solanka

Tabulka IV

Snášení 10 minut po aplikaci, jak se uvádí v dotazníku, počet osob vykazujících symptomy a jejich závažnost

Závažnost podráždění	Kontrola /pravá nos- ní dírka/	Nosič		
		A	B	C
žádné podráždění	27	5	5	7
středně přijatelné	0	4	4	2
mírně závažné	0	0	0	0
nepřijatelné	0	0	0	0

A 4EGf nosič
B 5 % GF v 4EGf
C Locilan^R
kontrola /pravá nosní dírka/ solanka

Tabulka V

Snášení 30 minut po aplikaci, jak se uvádí v dotazníku; počet osob vykazujících symptomy a jejich závažnost

Závažnost podráždění	kontrola /pravá nosní dírka/	Nosič		
		A	B	C
žádné podráždění	27	8	7	8
středně přijatelné	0	1	2	1
mírně závažné	0	0	0	0
nepřijatelné	0	0	0	0

A 4 EGf
B 5 % GF v 4EGf
C Locilan^R
kontrola /pravá nosní dírka/ solanka

Nosič A

4 EGf nosič

I tetraethylenglykol puriss p.a. 25 ml
koncentrovaná kyselina dusičná p.a. 1 kapka
II tetraethylenglykol puriss p.a. 25 ml
roztok I /přibližně 30 kapek/ do pH 3,8

Směsi I se použije k nastavení hodnoty pH směsi II za použití pH elektrody pro viskozni kapaliny /Radiometer GK 2711/. Do Pfeifferova multidispensoru se vnese 2 až 10 ml nosiče II /nosič A/ /Pfeiffer rozprašovač 6917.5902/3790. 0129/.

Nosič B

5 % GF v 4 EGf nosiči

I tetraethylenglykol puriss p.a. 25 ml
koncentrovaná kyselina dusičná p.a. 1 kapka
II tetraethylenglykol puriss p.a. 25 ml
roztok I /přibližně 30 kapek/ do hodnoty pH 3,8

III	Roztok II	23,75 ml
	glykofurol 75 purises	1,25 ml

Směsi I se použije k nastavení hodnoty pH směsi II za použití pH elektrody pro viskozitní kapaliny /Radiometer GK 2711/. Pak se připraví směs III /nosič B/. Do Pfeifferova multidispensoru se vnese 2 až 10 ml nosiče /Pfeiffer rozprašovač 6917.5902/3790.0129/.

Nosič C

Lokilan^R

propylenglykol, PhEur.III	2,00 g
Polyethylenglykol 400, Ph.Nord.63 II	20,00 g
Tween 20, Ph.Eur III	2,50 g
Benzalconiumchlorid, DLS 86	70,00 mg
dvojsodná EDTA, Ph. Eur. 2.vyd. 1983	10,00 mg
butylovaný hydroxytoluen, Ph.Nord 63 II, Add.	10,00 mg
kyselina citronová, Ph. Eur. III Suppl.77	5,00 mg
citrát sodný, 2 H ₂ O Ph Eur. III	7,65 mg
sorbitol DAK 63	2,86 g
čištěná voda, Ph Eur. 2. vyd. 1981	100,00 g

Příklad 2

Rozpustí se 10 mg clonazepamu ve 2 ml nosiče B /viz příklad 1/ za použití ultrazvuku, čímž se dosáhne koncentrace clonazepamu 5 mg/ml. Vnese se 50 μ l tohoto prostředku do každé nosní dírky samečku králíka druhu New Zealand White, drženího v poloze na znak po dobu podání a 1 minutu po podání. Pro podání se použije pipety Eppendorph. Odeberou se vzorky krve z ušních cév 0, 2, 5, 10, 15, 30 a 60 minut po podání a chromatografií HPLC se stanovuje koncentrace clonazepamu.

Na obr. 1 je střední koncentrace clonazepamu, zjištěná po jeho podání. Je ukázána také koncentrace v plasmě po i.v. vstříknutí do ušní cévy téže dávky /0,5 mg clonazepamu ve

formě Rivotrilu^R, vstříknutého v průběhu půl minuty. Z obr. je zřejmé, že koncentrace plasmy po intranasálním podání je přibližně stejná nebo dokonce vyšší za přibližně 2 minuty než v případě i.v. vstříknutí.

Příklad 3

Farmakodynamická odezva podporovaná GF

Farmakodynamická odezva se zkouší na příkladě novozélandských bílých králíků po podání 50 μ l 2,5 mg clonazepamu v ml nosiče do každé nosní dírky sedícího králíka. Nosič je tvořen 0, 10, 20, 30, 70 a 100 % glykofurolu 75 /Roche, šarže číslo 706127/, přidaného do tetraethylenglykolu /Merck, druh 808619/. Clonazepam se rozpustí působením ultrazvuku.

Na obr. 2 je střední doba odezvy /králík může být v ležící poloze se zadními packami nataženými na jednu stranu/. Čísla nad sloupky znamenají počet responderů ze čtyř zkoušených. Žádní respondenti v průběhu 10 minut nebyli započtení ve střední hodnotě jako desetiminutoví. Pro intranasální podání clonazepamu přibližně 10 % GF v 4EGm vykazuje optimální odezvu, zatímco přibližně 30 % GF vykazuje minimální odezvu. Totéž pozorováno pro hodnoty 30 % GF v 4EGf.

Příklad 4

Podává se 0,33 mg zinku prostého /monomerního/ lidského inzulínu v 50 μ l 12,5 mM fosfátovém páfru /pH 7,4/ obsahujícího 5 % glykofurolu 75 do jedné nosní dírky sedícího novozélandského bílého králíka o hmotnosti 3 kg. Odebrány vzorky 50 μ l krve z okrajové ušní cévy po 0, 15, 30 a 60 a 120 minutách a stanoven obsah glukosy v krvi.

Na obr. 3 se uvádí střední obsah glukosy jakožto procento počáteční hodnoty pro formulaci a pro 0,9% roztok kontrolní chloridu sodného. Podává se 100 μ l téže formulace avšak bez inzulínu do nosní dutiny zdravých dobrovolníků.

se zřetelem na místní podráždění nevykazuje zkoušená formulace ve srovnání s 0,9% roztokem chloridu sodného žádný rozdíl.

Příklad 5

Vnáší se 4 mg lidského glukagonu ve 100 ml fosfátového pufru /o hodnotě pH 4/, obsahujícího 5 % GF do obou nosních dírek /do každé 50 μ l/ 5 sedících hypoglykaemických novozélandských bílých králíků o hmotnosti přibližně 3 kg. Prostředek se připravuje rozpuštěním glykagonu v 7 mM fosfátovém pufru /o hodnotě pH 2,5/, nastavením hodnoty pH na 4,0 0,1 N roztokem hydroxidu sodného a konečným přidáním 5 % glykofurolumu 75. Králíkům se dodá hypoglykaemická subkutanním vstříknutím 83 μ g insulinu hodinu před zkouškou. Kontinuálně se odebírají vzorky krve z obvodové ušní cévy ke stanovení obsahu glukomy v krvi.

Na obr. 4 jsou uvedeny střední hodnoty koncentrace glukosy v krvi jakožto procento počáteční hodnoty po intranasálním podání glukagonu.

Příklad 6

Řízení píkovej hodnoty, farmakokinetiky

Rozpustí se 10 mg clonazepamu ve 2 ml následujících nosičů: /1/ 4EGf, /2/ PEG-200 a /3/ 4EGm /společnosti MERCK-Schuchardt/ za použití ultrazvuku. Podává se 50 μ l tohoto prostředku do každé nosní dírky sedícího bílého novozélandského králíka použitím Eppendorphovy pipety. Odebírají se pak vzorky krve z obvodové ušní cévy v následujících intervalech: 0, 2, 5, 10, 15, 30 a 60 minut a koncentrace clonazepamu se stanovuje HPLC chromatografií.

Na obr. 5 je vyznačena střední koncentrace clonazepamu v plasmě po intranasálním podání. Po přibližně dvou minutách je koncentrace v plasmě vyšší pro 4EGf než pro PEG-200 a pro 4EGm obsahující prostředky.

Příklad 7

Řízení píkovej hodnoty, farmakokinetiky

Připraví se prostředek obsahující 3 mg diazepamu ve 100 μ l nosiče a podá se králíkům podobným způsobem, jako je popsáno v příkladu 6. Používá se těchto nosičů: /1/ glykofuro- lum 75 /GF/, /2/ Miglyol 840 + GF /7 + 3/ a /3/ rostlinný olej + GF /7 + 3/. Pak se odebírají vzorky krve z obvodové uš- ní cévy v následujících intervalech: 0, 5, 10, 15, 30 a 60 minut a koncentrace diazepamu se stanovuje chromatografií HPLC.

Na obr. 6 je střední hodnota koncentrace diazepamu v plas- mě po intranasálním podání. Počáteční píkovej koncentrace v plas- mě se může řídit použitým nosičem GF/olej. Koncentrace v plas- mě pro GF prostředky za 5 minut je přibližně 55 % intravenoz- ního vstříknutí 3 mg diazepamu ve formě Stesolidu^R /Dumex A/S, Dánsko/.

Příklad 8

Řízení hodnoty píku, úloha GF jako podpůrného činidla

Připraví se prostředek obsahující 0,5 mg clonazepamu ve 100 μ l nosiče a podává se králíkům podobným způsobem, ja- ko je popsáno v příkladu 6. Používá se těchto nosičů: /1/ tetraethylenglykol /Merck/ /4EGm/, /2/ 2 % glykofurolu 75 /GF/ v 4 EGm, /3/ 5 % GF v 4 EGm, /4/ 10 % GF v 4EGm, /5/ 30 % GF v 4 EGm a /6/ GF. Pak se odebírají vzorky krve z ob- vodové ušní cévy v následujících intervalech: 0, 5, 10, 15, 30 a 60 minut a koncentrace clonazepamu se stanovuje chro- matografií HPLC.

Na obr. 7 je střední hodnota koncentrace clonazepamu v plasmě po intranasálním podání. Počáteční píkovej koncen- trace v plasmě se může řídit množstvím GF/4 EGm v prostřed- ku.

Příklad 9

Připraví se prostředek, obsahující 0,5 mg flunitrazepamu ve 100 μ l nosiče a podává se králíkům podobným způsobem, jako je popsáno v příkladu 6. Jakožto nosiče se použije polyethylenglykolu 200 /Merck, druh 807483/. Pak se odebírají vzorky krve z obvodové ušní cévy v následujících intervalech: 0, 5, 10, 15, 30 a 60 minut a koncentrace flunitrazepamu se stanovuje chromatografií HPLC.

Na obr. 8 jsou střední hodnoty koncentrace flunitrazepamu v plasmě po intranasálním a intravenózním /Rohypnol^R, Roche/ podání 0,5 mg flunitrazepamu.

Příklad 10

Připraví se prostředek, obsahující 4 mg midazolamu ve 100 μ l nosiče a podává se králíkům podobným způsobem, jako je popsáno v příkladu 6. Jakožto nosiče se použije polyethylenglykolu 200 /Merck, druh 807483/. Pak se odebírají vzorky krve z obvodové ušní cévy v následujících intervalech: 0, 5, 10, 15, 30 a 60 minut a koncentrace midazolamu se stanovuje chromatografií HPLC.

Na obr. 9 jsou uvedeny střední hodnoty koncentrace midazolamu v plasmě po intranasálním a intravenózním /Dormicum^R, Roche/ podání 4 mg midazolamu.

Příklad 11

Výzkum stability

K dosažení optimální stability clonazepamu v nosičích podle vynálezu, se provádějí urychlené zkoušky. Stabilita clonazepamu se studuje po dobu jednoho měsíce při teplotě 25 a 60 °C, přičemž se za velmi uspokojivé považují hodnoty přibližně 90 % nebo vyšší při teplotě 60 °C.

Připravují se následující prostředky, obsahující 5 mg/ml clonazepamu s výjimkou prostředku /1/ obsahujícího

20 mg/ml clonazepamu: prostředek /1/ a /2/ obsahuje jako nosič 4 EGf; prostředek /3/ ve srovnání s prostředkem /2/ má hodnotu pH upravenou na 3,5 kyselinou fosforečnou; prostředek /4/ ve srovnání s prostředkem /2/ má hodnotu pH upravenou na 3,5 kyselinou citronovou; prostředek /5/ ve srovnání s prostředkem /2/ obsahuje přísadu 9 % ethanolu; prostředek /6/ ve srovnání s prostředkem /2/ má hodnotu pH upravenou na 3,5 kyselinou dusičnou /méně než 0,01 %/; prostředek /7/ ve srovnání s prostředkem /2/ obsahuje 1 % vody; prostředek /8/ obsahuje propylenglykol /PG/; prostředek /9/ ve srovnání s prostředkem /8/ má hodnotu pH upravenou na 3,8 0,04% kyselinou octovou; prostředek /10/ ve srovnání s prostředkem /2/ obsahuje přísadu 0,4 % kyseliny octové; prostředek /11/ obsahuje 4 EGf + 5 % GF a přidanou kyselinu octovou v množství 0,4 % /hodnota pH přibližně 6/; prostředek /12/ ve srovnání s prostředkem /11/ obsahuje kyselinu dusičnou do hodnoty pH 2. Prostředek /13/ ve srovnání s prostředkem /11/ obsahuje přísadu 3 % benzylalkoholu; prostředek /14/ ve srovnání s prostředkem /10/ obsahuje přísadu 16 % ethanolu a 3 % benzylalkoholu; prostředek /15/ obsahuje 4 EGf + 5 % GF a má hodnotu pH nastavenou na 3,5 kyselinou dusičnou /méně než 0,01 %/; prostředek /16/ ve srovnání s prostředkem /15/ obsahuje přísadu 0,04 % dusičnanu sodného; prostředek /17/ ve srovnání s prostředkem /15/ obsahuje přísadu 5 % ethanolu; prostředek /18/ obsahuje 4 EGf + 5 % GF a hodnotu pH má upravenou na 4,2 kyselinou citronovou /0,1 %/; prostředek /19/ ve srovnání s prostředkem /15/ obsahuje přísadu 2 % benzylalkoholu; prostředek /20/ obsahuje 4 EGf + 5 % GF a přísadu dusičnanu sodného v množství 0,14 %.

Po dvou a čtyřech týdnech se odebere 100 μ l vzorku z nádob a kvantitativně se analyzuje chromatografií HPLC. Koncentrace /a stálost/ vzorku se vypočte na základě výšky píku se zřetelem na clonazepamový standard.

Jak je zřejmé z tabulky VII, pouze kyselina dusičná, dusičnan, ethanol a benzylalkohol zvyšují stálost. Obsah

vody v 4 EGf, GF a PG je přibližně 0,05 %. Překvapivě stabilita například v 4 EGf se nesnižuje přidáním 1 % vody. Dále stabilita prostředků při teplotě 25 °C je stejná pro prostředky, uchovávané v ampulích /pod dusíkem/ a v 10 ml Pfeifferově čerpadle /model 6917.5902/3790,0129/.

Na obr. 10 je diagram stability clonazepamu v různých nosičích.

Tabulka VII

Stabilita clonazepamu při teplotě 25 °C a 60 °C v různých nosičích; % stálosti po 2 a 4 týdnech

Prostředek číslo	Dva týdny			Čtyři týdny		
	amp. /-vzduch/ 25 °C	Spraybott. 60 °C	Spraybott. 25 °C	amp.-vzduch/ 25 °C	Spraybott. 60 °C	Spraybott. 25 °C
1. 4 EGf 20mg/ml	98	91	100	82	73	87
2. 4 EGf 5mg/ml	98	82	96	83	61	84
3. 4 EGf pH 3,5 /fosfát/	98	79	100	84	62	85
4. 4 EGf pH 3,5 /kys. šťavelová/	95	43	95	81	18	82
5. 4 EGf ethanol 9 %	100	90	99	85	71	90
6. 4 EGf pH 3,8 /kys. dusičná/	98	88	97	95	87	95
7. 4 EGf voda, 1 %	94	83	94	89	71	94
8. PG	96	69	99	96	56	92
9. PG pH 3,8 /kys. octová/	100	99	103	93	95	97
10. 4 EGf + 0,4 % kyseliny octové	102	84	102	99	67	102

Kondentrace: prostředek č. 1 přibližně 20 mg C/ml

prostředek číslo 2 až 10 přibližně 5 mg C/ml

Tabulka VII /pokračování/

Stabilita clonazepamu při teplotě 25 °C a 60 °C v různých nosičích; % stálosti po 2 a 4 týdnech

Frostředek číslo	Dva týdny			Čtyři týdny		
	amp./-vzduch/	Spraybott.		amp./-vzduch/	Spraybott	
	25 °C	60 °C	25 °C	25 °C	60 °C	25 °C
11. 4 EGf+5 % GF, 0,4 % kys.octové	101	80	100	98	63	99
12. =č.11, pH 2 /kys.dusičná/	98	86	-	97	81	-
13. =č.11 + 3 % benzyl-OH	103	85	102	99	76	96
14. =č.10 + 3 % benzyl-OH + 16 % ethanolu	103	92	-	100	80	-
15. 4 EGf+5 % GF pH 3,8 /kys.dusičná/	99	94	96	96	96	98
16. =č.15 + 0,04 % dušičnanu	102	95	100	96	93	98
17. =č.15 + 5 % ethanolu	96	98	99	98	87	98
18. 4 EGf+5 % GF pH 4,2, /kys. citronová/	95	85	94	93	67	98
19. =č.15 + 2 % benzyl-OH	101	96	97	98	93	99
20. 4 EGf + 5 % GF + 0,04 % du- sičnanu	93	75	99	99	78	95

Poznámka: " - " znamená, že hodnota chybí

Koncentrace: prostředek č. 11 až 20 přibližně 5 mg C/ml

Příklad 12

Toxikologická studie

Tento výzkum se provádí k posouzení změn nosní dutiny králíků po jedné dávce nosiče do každé nosní dírky. Jakožto nosiče se zkouší glykofurol 75, tetraethylenglykol /Fluka/ a propylenglykol /DLS-kvalita, Mecobenzon, Dánsko/.

Rozdělí se 16 králíků do čtyř skupiny vždy o čtyřech králících. Tři skupiny se podrobí jedné intranasální aplikaci každého zkoušeného nosiče, 50 μ l do každé nosní dutiny. Každý králík dostane jen jednu zkoušenou sloučeninu. Jedna skupina se považuje za kontrolní a dostane stejný objem isotonického roztoku chloridu sodného. Králíci se zabijí 10 minut po aplikaci a nechají se vykrvácet. Pak se otevře pravá nosní dutina a hodnotí se mikroskopicky. Hodnotitel nezná dávkovací schéma. Levá nosní dutina se vyřízne a fixuje se v neutrálně pufovaném formalinu pro histologické hodnocení.

Makroskopické a mikroskopické posouzení v případě každého z králíků číslo 1 až 16 je uvedeno v tabulce VIII a shrnuto v tabulce IX se zřetelem na čtyři používané nosiče. S překvapením se nezjistily žádné makroskopické ani mikroskopické rozdíly v případě isotonického fyziologického roztoku /roztoku chloridu sodného/ a tří zkoušených nosičů.

Tabulka VIII

Posouzení nosních dutin králíků 10 minut po intranasálním podání nosiče

N.A.=žádná abnormalita, L = stupeň

Makroskopické
pozorování
/pravá dírka/

Mikroskopické pozorování

/levá dírka/

1. N.A.

L 1 překrvení

L 2 ohniskové lymfoidní agregáty

L 3 N.A.

L4 N.A.

Tabulka VIII /pokračování/

2. mírně hyperaemické	L 1 překrvení L 2 ohnisková haemorrhagie, překrvení L 3 ohniskové lymfoidní agregáty L 4 N.A.
3. N.A.	L 1 překrvení L 2 překrvení L 3 překrvení L 4 ohnisková subsliznicová haemorrhagie
4. sliznice nosní dutiny bledší než normálně	L 1 překrvení L 2 překrvení L 3 překrvení a zhuštění sliznice L 4 N.A.
5. 2 mm haemorrhagické ohnisko	L 1 překrvení L 2 překrvení, ohnisková haemorrhagie a odlupování, otok, malé ohnisko chronického zánětu a ohniskové lymfoidní skvrny L 3 lymfoidní agregáty L 4 oblast chronického zánětu
6. 6 x 3 mm plocha haemorrhagie	L 1 překrvení a ohnisko odlupování, nepatrná haemorrhagie L 2 překrvení a oblast subsliznicové haemorrhagie L 3 N.A. L 4 mírné překrvení
7. N.A.	L 1 překrvení L 2 otok, překrvení, ohnisková haemorrhagie L 3 překrvení, ohniskové lymfoidní agregáty L 4 difuzní akutní a chronický zánět, poly a mono nukl. bunky, krev v lymfaticích

Tabulka VIII /pokračování

8. N.A.:
- L 1 překrvení
 - L 2 překrvení s určitou podsliznicovou haemorrhagií, otok
 - L 3 překrvení s určitou podsliznicovou haemorrhagií, otok
 - L 4 překrvení s určitou podsliznicovou haemorrhagií, otok; podsliznicové zhuštění sliznice, lymfoidní agregáty
9. N.A.
- L 1 překrvení a otok
 - L 2 překrvení a otok
 - L 3 překrvení a boční stěna s mono a polymorfonukleárním buněčným infiltrátem s lymfoidní agregací
 - L 4 překrvení a boční stěna s mono a polymorfonukleárním buněčným infiltrátem s lymfoidní agregací
10. N.A.
- L 1 překrvení
 - L 2 překrvení s případnými ohniskovými lymfoidními agregáty
 - L 3 otok a překrvení
 - L 4 ohniskový chronický mononukleární buněčný infiltrát, dilatace lymfatických cév
11. N.A.
- L 1 otok a překrvení
 - L 2 otok, překrvení, ohnisková haemorrhagie a podsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 3 dilatace cév
 - L 4 N.A.
12. N.A.
- L 1 překrvení, dilatace cév, ohnisková haemorrhagie
 - L 2 překrvení, otok, ohnisková haemorrhagie
 - L 3 překrvení, subsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 4 překrvení, subsliznicové lymfoidní agregáty
13. N.A.
- L 1 překrvení
 - L 2 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 3 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 4 překrvení a výrazné lymfoidní agregáty

14. 3 mm haemorrhagické ohnisko v přední oblasti
- L 1 N.A.
 - L 2 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 3 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 4 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty
15. malý oděr, špendlíkové body v přední oblasti
- L 1 překrvení, otok, ohnisková haemorrhagie
 - L 2 překrvení, ohnisková haemorrhagie, podsliznicové lymfoidní agregáty
 - L 3 překrvení, otok, mononukleární buněčný infiltrát blízko bazální sekce
 - L 4 překrvení
16. 4 x 3 mm plocha haemorrhagie směrem k přední oblasti
- L 1 překrvení, otok
 - L 2 překrvení, otok, ohnisková haemorrhagie a odlupování
 - L 3 překrvení, otok, subsliznicové lymfoidní agregáty zvláště v blízkosti báze
 - L 4 otok, subsliznicové lymfoidní agregáty

V následující tabulce IX je souhrn výsledků pozorování nosních dutin králíků 10 minut po intranasální aplikaci 4 EGf, GF, PG a 0,9% roztoku chloridu sodného /použitých jakožto nosičů/. Zkratka N.A. v tabulce znamená, že se nezjistily žádné abnormality. I znamená 0,9% roztok chloridu sodného, nosič II znamená glykofurol /GF/, nosič III znamená polypropylen glykol /PG/ a nosič IV znamená tetraethylglykol /4 EGf/.

Tabulka IX

Nosič	Králík číslo	Makroskopické pozorování pravá dírka	Mikroskopické pozorování levá dírka
I	3	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	6	6 x 3 mm haemorrhagické ohnisko, přední sekce	ohnisková haemorrhagie
	12	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	13	N.A.	N.A.
II	2	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	8	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	9	N.A.	N.A.
	16	4 x 3 mm haemorrhagické ohnisko, přední sekce	ohnisková haemorrhagie
III	4	N.A.	N.A.
	5	2 mm haemorrhagické ohnisko, přední sekce	ohnisková haemorrhagie
	11	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	14	2 mm haemorrhagické ohnisko, přední sekce	N.A.
IV	1	N.A.	N.A.
	7	N.A.	ohnisková haemorrhagie
	10	N.A.	N.A.
	15	špendlíkovitá oděrka v předu	ohnisková haemorrhagie

Při zkouškách se s překvapením zjistilo, že intranasální absorpce například benzodiazepinů jako clonazepamu a diazepamu, v nosičích podle vynálezu je velmi podobná intravenóznímu vstříkávání /i.v./. Z obr. 1 je zřejmé, že píkovaná koncentrace clonazepamu v plasmě / t_{max} / se dosahuje dříve než za 2 až 3 minuty a že koncentrace v plasmě po dvou a půl minutách / $C_{pl} / 2,5 \text{ min} //$ je přibližně 100 % hodnoty při i.v. podání. Volba kvality nosičů podle vynálezu má s překvapením vliv na rychlost absorpce. Koncentrace clonazepamu v plasmě po 2,5 minutách je například o přibližně 40 % vyšší pro

4 EGF /kvality Fluka-Chemie AG/ než pro 4 EGF /kvality MERCK-Schuchardt/ nebo PEG 200 /kvality MERCK-Schuchardt/ a t_{max} je rovno nebo menší než 2,5, 10 a 15 minut, jak je zřejmé z obr. 5.

Farmakodynamická odezva byla studována na případě králíků. Doba odezvy po intranasální aplikaci 0,25 mg clonazepamu ve 100 μ l nosiče se měří. Střední doba je uvedena na obr. 2 a experimentální podmínky jsou popsány v příkladu 3. Jak je zřejmé z obr. 2, farmakodynamická odezva po intranasálním podání clonazepamu v nosiči podle vynálezu se získá v době kratší než 2 minuty po podání.

Prostředek podle vynálezu je stálý. To je doloženo například měřením koncentrace benzodiazepinu v prostředcích podle vynálezu po jednom měsíci, uchovávaných při teplotě 60 °C nebo 25 °C /viz příklad 11/. Stálý roztok /se stálostí rovnou nebo větší než 90 %/ se může získat za použití PG po přidání kyseliny octové /k nastavení hodnoty pH 3,8 až 4/. Stejně množství kyseliny octové není schopné dodat stálost roztoku 4 EGF a množství kyseliny octové, potřebné k nastavení hodnoty pH na 4, je příliš vysoké. S překvapením nastavení hodnoty pH za použití kyseliny dusičné vede ke stálým roztokům clonazepamu v například 4 EGF obsahujícím popřípadě 5 % GF /stálost přibližně rovná nebo vyšší než 90 %/.

S překvapením se nyní zjistilo, že použití nosiče podle vynálezu spolu s insulinem nebo glukagonem vede k výrazné biologické odezvě v průběhu 15 až 30 minut po intranasálním podání králíkům /viz obr. 3 a 4 a příklad 4 a 5/.

Příklad 13

Biologická dostupnost

Biologická dostupnost estrogenu /E2/ a estronu /E1/ po intranasálním podání /i.n./ králíkům /n = 3/ ve formě jedné dávky 50 μ g E2 se zjišťuje tak, že se dva prostředky obsahující 30 % a 100 % glykofurolu /GF/ podávají ve formě stejné dávky i.n. a i.v.

Materiály

Používá se 17- β -estradiolu /estrogen = E2/ společnosti Novo Nordisk /Kodaň, Dánsko/, propylenglycolum ad infundibilia /PG/ společnosti Mecobenzon /Kodaň, Dánsko/ a glykofurolum 75 /GF/ společnosti Hoffman La-Roche /Basilej, Švýcarsko/. Všechny ostatní reagenty jsou analytické čistoty.

Příprava drogy

Prostředky pro i.v. vstřikování a pro intranasální podání se připravují těsně před podáním. Prostředek /1/ pro i.v. podání se připravuje rozpuštěním 2,729 mg E2 ve 25,0 ml PG a přidáním 25,0 ml isotonické solanky. Prostředek /2/ pro intranasální podání /i.n./ se připravuje rozpuštěním 4,938 mg E2 v 10,0 ml GF. Prostředek /3/, také pro i.n. podání, se připravuje rozpuštěním 4,996 mg E2 v 3,00 ml GF a přidáním isotonické solanky k dosažení celkového objemu 10,0 ml.

Dávkování

Třem králíkům /n = 3/ se i.v. podá 1,0 ml prostředku /1/ /ekvivalent 50 μ g E2/ ve formě 30 sekundové infuze do ušní cévy. Třem králíkům /n = 3/ se intranasálně /i.n./ podá prostředek 2 nebo 3 za použití Eppendorphovy pipety. Každému králíkovi se vnáší do nosní dírky 50 μ l, což odpovídá 50 μ g E2. Intranasální podání trvá přibližně 5 sekund. Po dobu přibližně jedné minuty po intranasálním podání se králíci udržují v poloze ležící na znak.

Vzorky krve se odebírají 0, 5, 10, 20, 30 a 60 minut po podání. Plasma se izoluje a uchovává se při teplotě +20 °C do zkoušky.

Koncentrace v plasmě nekonjugovaného E2 a E1 se měří radioimuno zkouškou, kterou popsal Emmet a kol., 1972. Po extrakci etherem se E1 a E2 oddělí na sloupci Sephadexu LH20. Radioimuno zkouška se provádí po odpaření rozpouštědla. Detekční mez pro E1 a E2 je 40 pmol/l. Rozptyl pro intra a inter zkoušku je v případě E1 7,0 % a 9,6 % a pro případ E2 zkoušky 7,4 % a 10,5 %.

Korekce dávka/hmotnost pro jednotlivé koncentrace v plasmě je vypočtena se zřetelem na střední i.v. hodnotu dávka/hmotnost /22,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /. Pro prostředek /1/ i.v. plocha /AUC/ pod křivkou koncentrace E2 v plasmě - čas, od nuly do nekonečna, je přiřazena část se 30 sekundovou infuzí. Všechny ostatní hodnoty AUC vypočteny za použití trapezoidálního pravidla.

Koncentrace E 2 a E1 v plasmě po podání E2 je v tabulce X a XI a na obr. 11 a 12. Na obr. 11 jsou střední \pm S.D. koncentrace estrogenu /E2/ v plasmě po podání přibližně 50 μg estrogenu králíkům /n = 3/ buď ve formě i.v. injekce /prostředek 1 nebo ve formě intranasálního podání /prostředek /2/ i.n. a /3/ i.n. s obsahem glykofurolu /GF/ 100 % a 30 %/.

- x - prostředek /1/ i.v. - ● - prostředek /2/ i.n. a
.. o .. prostředek /3/ i.n.

a na obr. 12 jsou střední \pm S.D. koncentrace estronu /E1/ v plasmě po podání přibližně 50 μg estrogenu králíkům /n = 3/ ve formě i.v. injekce /prostředek /1// nebo intranasálně /prostředek /2/ i.n. a prostředek /3/ i.n. formulovaný s obsahem glykofurolu /GF/ 100 % a 30 %/.

- x - prostředek /1/ i.v. - ● - prostředek /2/ i.n. a
.. o .. prostředek /3/ i.n.

Jak je zřejmé z obr. 11 a 12 a z tabulky XII vykazuje intranasální podání hodnoty velmi podobné i.v. podání. Biologická dostupnost je uvedena v tabulce XII. Biologická dostupnost pro E2 je 87 a 80 % a pro E2 + E1 104 a 95 % v případě prostředku /2/ i.n. a /3/ i.n. Hodnota $C_{5\text{min}}$ pro E2 je 109 % a 95 % a pro E2 + E1 je 118 % a 105 %. T_{max} je kratší než 5 minut.

V tabulce X se uvádí jednotlivé koncentrace estrogenu /E2/ v plasmě po podání přibližně 50 μg estrogenu králíkům /n = 3/ i.v. /prostředek 1/ nebo i.n. /prostředek /2/ a /3/ i.n., formulovaný se 100 nebo 30 % glykofurolu /GF/. n.d. nižší než 0,04 nmol/l. V tabulce XI se uvádí jednotlivé koncentrace estronu /E1/ v plasmě po podání přibližně 50 μg estronu králíkům /n = 3/ i.v. /prostředek 1/ nebo i.n. /prostředek /2/ a /3/i.n., formulovaný se 100 % nebo 30 % glykofurolu /GF//.

n.đ. nižší než 0,04 nmol/l.

V tabulce XII se uvádějí farmakokinetické hodnoty /dávka korigována se zřetelem na střední i.v. dávku/ pro estrogen /E2/ a estron /E1/ po jednom podání přibližně 50 μ g estrogenu /n = 3/ ve formě i.v. injekce /prostředek 1/ nebo intranasálního podání /prostředek /2/ i.n., prostředek /3/ i.n./. AUC /nmol ml⁻¹ min/ je plocha pod křivkou koncentrace v plasmě - čas od nuly do nekonečna.

C_{max} /nmol/ml/ je maximální koncentrace v plasmě

t_{max} /min/ je čas maximální koncentrace v plasmě.

Tabulka X

Prostředek	Králik číslo	E2 koncentrace v plesmě (nmol/ml) po počtu min.						Dávka/hmotnost pg/kg
		0	5	10	20	30	60	
1. i.v.	4	n.d.	49,0	37,0	19,0	15,0	4,90	22,2
	5	0,12	65,0	45,0	29,0	18,0	7,60	21,8
	6	0,12	38,0	30,0	25,0	21,0	11,0	22,9
2. i.n. (100% GF)	1	0,19	75,0	26,0	16,0	11,0	3,70	20,1
	2	0,09	50,0	32,0	18,0	11,0	5,20	21,3
	3	n.d.	44,0	24,0	14,0	8,8	3,30	19,3
3. i.n. (30% GF)	7	0,10	41,0	31,0	15,0	8,7	3,90	17,5
	8	0,09	64,0	32,0	18,0	10,0	3,40	19,4
	9	0,08	31,0	17,0	8,2	5,9	1,90	18,5

Tabulka XI

Frostře- dek	Králík číslo	E1 koncentrace v plasmě (nmol/ml) po počtu min.						Dávka/ hmotnost pg/kg
		0	5	10	20	30	60	
1. i.v.	4	n.d.	4,30	4,30	3,10	2,70	1,60	22,2
	5	n.d.	4,00	5,10	4,60	3,30	1,50	21,8
	6	n.d.	2,20	2,60	2,80	2,30	1,50	22,9
2. i.n. (100% GF)	1	n.d.	11,00	9,90	7,10	4,80	3,00	20,1
	2	n.d.	6,20	7,40	6,00	3,40	3,00	21,3
	3	n.d.	8,50	9,00	5,90	4,30	1,60	19,3
3. i.n. (30% GF)	7	n.d.	8,10	8,90	5,80	3,90	2,30	17,5
	8	n.d.	5,30	6,10	5,00	3,90	2,40	19,4
	9	n.d.	8,80	7,50	3,80	3,70	1,90	18,5

Tebulka XII

Parametr	Pozorovaný střed /dávka korigována/			% se zřetelen na 1 i.v. střed \pm SD		
	1 i.v.	2 i.n.	3 i.n.	1 i.v.	2 i.n.	3 i.n.
AUC	E ₂	1302	1138	1038	87 \pm 11	80 \pm 30
	E ₁	241	471	432	195 \pm 18	179 \pm 12
	E ₂ +E ₁	1543	1609	1470	104 \pm 13	95 \pm 25
C _{max}	E ₂	57	62	54	109 \pm 29	95 \pm 35
	E ₁	4	10	10	150 \pm 22	250 \pm 22
	E ₂ +E ₁	61	72	64	118 \pm 28	105 \pm 33
t _{max}	E ₂	5	5	5	100 \pm 0	100 \pm 0
	E ₁	12	8	8	67 \pm 38	67 \pm 38

Ze shora uvedeného vyplývá, že solubilita E2 v GF je přibližně 230 mg/ml. Klinická dávka 50 μ g je rozpustná v 0,25 μ l. Proto je za použití GF možné podání klinické dávky v extrémně malém mikrolitrovém objemu. Jelikož rozpustnost klesá exponenciálně ve směsi s vodou, má být objem dávky za použití GF jako nosiče například přibližně 5 μ l, aby se předešlo nežádoucímu vysrážení E2 v nosní sliznici.

Malý objem dávky je žádoucí, aby se snížila nebo vyloučila místní dráždivost. Je také možno přidávat nedráždivé korozpouštědlo, například se může přidávat rostlinný olej. Tímto způsobem se může získat žádaný objem dávky nebo se může dosáhnout žádané rychlosti uvolňování. Ke snížení píkové koncentrace v plasmě může být také žádoucí omezené vysrážení E2 v nosní sliznici.

Bezvodý GF-prostředek může být užitečný při akutním jakož i při chronickém podávání.

Průmyslová využitelnost

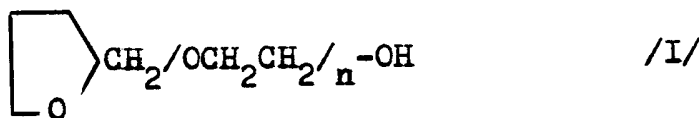
Nosič pro farmaceutický prostředek pro podávání biologicky účinné látky sliznicovou membránou savců.

1361-91

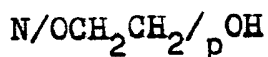
- 46 -

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutický prostředek pro podávání biologicky účinných látek sliznicovou membránou savců, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje alespoň jednu látku ze souboru n-glykofurolů obecného vzorce I



kde znamená n 1 až 8 a n-ethylenglykolů obecného vzorce II



kde znamená p 1 až 14.

2. Farmaceutický prostředek podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že jakožto alespoň jeden n-ethylenglykol obsahuje alespoň jeden n-ethylenglykol obecného vzorce II, kde znamená p 1 až 8.

3. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje n-glykofurol obecného vzorce I, kde znamená n 1 nebo 2.

4. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , že alespoň jedna biologicky účinná látka je volena ze souboru biologicky aktivních peptidů zažívacího nebo gastrointestinálního traktu.

5. Farmaceutický prostředek podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje biologicky účinnou látku, volenou ze souboru zahrnujícího koagulační faktory jako faktor VII, faktor VIII, faktor IX a jejich deriváty a analogy, činidla řídící kostní metabolismus jako calcitonin a jeho deriváty a analogy, hormony vylučované hypothalamusem jako LHRH nebo analogy, například nafarelin, buserelin nebo Zolidex, enkefaliny jako DADLE, merkephamid nebo leucinenkefalin,

hormony, vylučované pankreas jako insulin nebo glukagon a jejich deriváty a analogy, hormony vylučované hypofýzou jako růstový hormon, vasopressin nebo oxytocin a jejich deriváty a analogy například DDAVP nebo lyspressin a sexuální hormony jako FSH, LH nebo LTH a jejich deriváty a analogy.

6. Farmaceutický prostředek podle nároku 1 až 3, vyznačující se tím, že alespoň jedna biologicky účinná látka je volena ze souboru zahrnujícího antiepileptika, spasmolytika a uklidňovací prostředky ze souboru zahrnujícího benzodiazepiny jako clonazepam, diazepam, flunitrazepam, triazolam, lorazepam, nitrazepam nebo jejich směsi v množství hmotnostně 0,001 až 20 %.

7. Farmaceutický prostředek podle nároku 4 až 6, vyznačující se tím, že obsahuje hmotnostně 0,0001 až 5 % kyseliny dusičné a/nebo dusičnanu.

8. Farmaceutický prostředek podle nároku 4 až 5, vyznačující se tím, že obsahuje hormony pankreasu jako insulin a jeho deriváty a analogy a glukagon a jeho analogy a deriváty.

9. Způsob přípravy farmaceutického prostředku podle nároku 1 až 8, vyznačující se tím, že se biologicky účinná látka rozpouští v připraveném nosiči, sestávajícím z alespoň jedné látky ze souboru n-glykofuroolů obecného vzorce I a n-ethylenglykolů obecného vzorce II, kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 uvedený význam, obsahujícím část nebo všechny další složky farmaceutického prostředku.

10. Způsob podle nároku 9, vyznačující se tím, že se biologicky účinná látka rozpouští v nosiči za použití ultrazvuku a/nebo zvýšené teploty.

11. Použití jedné nebo několika látek ze souboru zahrnujícího n-glykofuroly obecného vzorce I a n-ethylenglykoly obecného vzorce II, kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 u-

vedený význam pro přípravu farmaceutického prostředku podle nároku 1 až 8 pro podávání biologicky účinné látky prostřednictvím sliznicové membrány savců.

JUD. PETR KAVENSKÝ
1878/1918