

Цей винахід стосується проліпосомних порошків, що використовуються, зокрема, для інгаляції, способу отримання проліпосомних порошків, композицій, які містять проліпосомні порошки, і способів їх застосування.

Технічні передумови до здійснення винаходу

Ліпосоми належать до мембраноподібних везикул, що складаються з ряду ліпідних бішарів, які чергуються з гідрофільними ділянками. Вони можуть бути побудовані з численних натуральних та синтетичних ліпідів, таких, як натуральні й синтетичні фосфогліцероліпіди, сфінголіпіди і дигалактозилгліцероліпіди. Одним з основних застосувань ліпосом є використання їх як носіїв для різних видів фармацевтичних активних компонентів з метою поліпшення доставки лікарських засобів та мінімізації побічних ефектів деяких курсів лікування. Фармацевтичні активні компоненти можуть бути включені у ліпосоми або шляхом інкапсулювання їх у гідрофільні ділянки ліпосом (в випадку, коли активний компонент є розчинним у воді), або шляхом інкапсулювання їх у ліпідні бішари, коли активний компонент є ліпофільним.

Однією з основних проблем, пов'язаних з фармацевтичними ліпосомними препаратами, є стабільність в умовах тривалого зберігання. Водні ліпосомні дисперсії мають обмежену стабільність, що пов'язано з агрегацією, втратою активного компонента в зовнішній фазі, хімічною деградацією активного компонента або ліпідного матеріалу тощо.

Ці проблеми можуть бути значною мірою подолані у разі використання твердої композиції. Такі тверді композиції можуть містити ліпосомний порошок, тобто висушену ліпосомну дисперсну систему або про ліпосомний порошок.

Процес висушування ліпосомних дисперсій пов'язаний із ризиком пошкодження ліпосомних мембран. Для мінімізації такого ризику ліпосоми слід висушувати у присутності захисних цукрів, як це описано, наприклад, у публікації WO 86/01103.

У патенті США номер 4906476 розкриваються ліпосомні препарати для доставки стероїдів методом інгаляції. В ньому також розкривається можливість доставки висушених ліпосом в вигляді порошкоподібного аерозолу з використанням придатного пристрою. Крім того, у цьому документі розкрито доставку шляхом розпилення з розпилювача, що містить як розчинник газ-витискач із суспендованими у ньому частками сухого порошку ліпосом, а також розпилення сухих часток у легені за допомогою газу-витискачу.

При цьому ліпосоми як такі не є наявними у проліпосомних порошках, а утворюються в процесі гідратації при температурі, що перевищує температуру фазового переходу ліпідів. Про ліпосомні порошки мають перевагу порівняно з препаратами висушених ліпосом, оскільки в цьому випадку виключено ризик пошкодження ліпосомних мембран при дегідратації.

Про ліпосомні порошки вже було описано раніше.

Так, наприклад, у патенті США 4311712 розкрито ліофілізовану потенційно-ліпосомну суміш (що спроможна генерувати ліпосоми), яку було одержано при розчиненні амфіпатичного ліпиду, що утворює ліпосоми, та ліпідорозчинного або ліпідзв'язаного біологічно активного сполучення в органічному розчиннику, який залишається твердим у ході ліофілізації, з подальшою ліофілізацією одержаного розчину. Потенційно-ліпосомна суміш може зберігатися і потім при бажанні відновлюватися в вигляді водного ліпосомного препарату. При цьому біологічно активне сполучення може являти собою будь-яке сполучення, що має властивості біологічного характеру.

У публікації WO 90/00389 розкрито ліофілізовану потенційно-ліпосомну суміш, яка містить амфіпатичний ліпід і циклоспорин або його похідне, для використання у процесі доставки в клітини циклоспорину за допомогою ліпосом, що утворюються. Ліофілізована суміш відновлюється у водному середовищі з утворенням ліпосом, до яких інкапсульовано практично весь циклоспорин, що він містився у ліофілізованій суміші.

В публікації WO 92/11842 розкрито проліпосомний порошок, який при відновленні водою або сольовим розчином утворює суспензію ліпосом з включеним до них полієновим лікарським засобом, наприклад, ністатином.

Всі зазначені вище патенти і заявки мали відношення до проліпосомних композицій, які перед введенням піддають гідратації.

В EP 309464 розкрито проліпосомні порошкові композиції, що їх можна використовувати при інгаляції. Названі порошкові композиції включають тверді частки, в яких біологічно активний компонент міститься у вигляді дисперсії в ліпіді.

Мета винаходу

Автори винаходу виявили, що, якщо більш прийнятною є доставка лікарського засобу шляхом інгаляції, то вигідно забезпечити проліпосомні порошки, що включають тільки одну фазу. Тому однією з цілей цього винаходу є забезпечення такого проліпосомного порошку.

Розкриття винаходу

Вищезазначена мета нинішнього винаходу досягається при розробці проліпосомного порошку, що містить тільки одну фазу, яка складається з дискретних часток біологічно активного компонента в поєднанні з ліпідом або сумішшю ліпідів, що мають температуру фазового переходу (T_c) нижчу за 37°C.

Порошок, що розглядається, є найбільш зручним для введення його шляхом інгаляції.

Єдину фазу порошку може бути також описано як таку, що містить гомогенну молекулярну суміш біологічно активного компонента і ліпиду або суміші ліпідів, які мають температуру фазового переходу (T_c) нижчу за 37°C.

Терміни "одна, або єдина фаза" та "гомогенна молекулярна суміш" слід розуміти таким чином, що в порошок цього винаходу відсутня окрема кристалічна фаза активного компонента або ліпиду.

Єдину фазу порошку може бути введено інгаляцією безпосередньо, а також *in situ*, наприклад, у верхню або нижню частину дихальної системи, із утворенням ліпосом, до яких повністю включено

біологічно активний компонент.

В цілому, слід; зазначити, що в цьому винаході може використовуватися будь-який амфіпатичний ліпід або суміш ліпідів, відносно яких відомо, що вони є придатними для приготування ліпосом за допомогою вже існуючих відомих методів. Такі ліпід або ліпідна суміш повинні мати температуру фазового переходу нижчу за температуру тіла (37°C) для того, щоб продукт в формі проліпосомального порошку можна було піддавати гідратації в фізіологічних умовах (тобто для того, щоб такий продукт міг утворювати ліпосоми в дихальній системі). Температури фазового переходу для різних ліпідних сумішей може бути легко визначено, використовуючи добре відомі засоби, такі, як диференційна скануюча калориметрія (ДСК) (див., наприклад, J. Suurkuusk et al., Biochemistry, 1976, 15, no. 7, p.1393). Взагалі, в цьому винаході може використовуватися будь-який натуральний або синтетичний ліпід або суміш ліпідів, які мають температуру фазового переходу нижчу за 37°C.

Як приклади придатних для використання ліпідів можна навести натуральні й синтетичні ліпіди, такі як натуральні та синтетичні фосфогліцероліпіди, сфінголіпіди й дигалактозилгліцероліпіди. Серед натуральних ліпідів слід відзначити сфінголіпіди (СЛ), такі як сфінгомієлін (СМ), церамід і цереброзид; галактозил ліцероліпіди, такі як дигалактозилдіацилгліцерин (ДГалДГ); фосфогліцероліпіди, такі як фосфатидилхолін яєчного жовтка (я-ФХ) та соєвий фосфатидилхолін (с-ФХ); і лецитини, такі як лецитин яєчного жовтку (я-лецитин) та соєвий лецитин (с-лецитин). З-поміж синтетичних ліпідів слід відзначити диміристоїл фосфатидилхолін (ДМФХ), дипальмітоїл фосфатиди холін (ДПФХ), дистеароїл фосфатидилхолін (ДСФХ), дилаурил фосфатидилхолін (ДЛФХ), 1-міристоїл-2-пальмітоїл фосфатидилхолін (МПФХ), 1-пальмітоїл-2-міристоїл фосфатидилхолін (ПМФХ) та діолеоїл фосфатидилхолін (ДОФХ). Серед сумішей ліпідів можна відзначити такі: СМ/ФХ, СМ/холестерин, яФХ/холестерин, сФХ/холестерин, ФХ/ФС/холестерин, ДМФХ/ДПФХ, ДМФХ/ДПФХ/Х, ДМФХ/Х, ДПФХ/ДОФХ, ДПФХ/ДОФХ/Х, ДЛФХ/ДПФХ, ДЛФХ/ДПФХ/Х, ДЛФХ/ДМФХ, ДЛФХ/ДМФХ/Х, ДОФХ/ДСФХ, ДПСМ/ДМСМ, я-лецитин/холестерин та с-лецитин/холестерин. На доповнення до будь-якого з зазначених вище продуктів може включатися заряджений ліпід, такий як диміристоїл фосфатидилгліцерин (ДМФГ), дифоспальмітоїл фосфатидилгліцерин (ДПФГ), диміристоїл фосфатидинова кислота (ДМФК), дипальмітоїл фосфатидинова кислота (ДПФХ) або стеариламін (СА).

Ліпідами, що викликають особливий інтерес в контексті цього винаходу, є ДПФХ і/або ДМФХ. Більш прийнятною є суміш ДПФХ і ДМФХ, що містить, принаймні, 10мас.% ДМФХ, наприклад, 10 - 50% ДМФХ. Найбільш прийнятною є суміш ДПФХ і ДМФХ, що містить на додаток, принаймні, один заряджений ліпід, такий, як ДМФГ, ДПФГ, ДМФК або СА, наприклад, кількістю до 5мас.%. Інші більш прийнятні суміші включають ДПСМ і ДМСМ, які не обов'язково містять, принаймні, один заряджений ліпід, а також суміші холестерину з я-лецитином або з с-лецитином, що не обов'язково містять, принаймні, один заряджений ліпід і мають Тс меншу за 37°C. Інші суміші можуть бути легко відібрані будь-яким фахівцем зі середнім рівнем знань у цій галузі, якщо звернутися до відповідних посібників (наприклад, Gregor Sevc, Phospholipids Handbook, Marcel Dekker, New York (1993), pp 427 - 435).

Активний компонент, більш прийнятно, має молекулярну структуру, що її може бути включено до ліпідних бішарів для полегшення процесу інкапсулювання в ліпосоми при гідратації. Як приклад можна назвати ефір жирної кислоти з довгим вуглеводневим ланцюгом, який є достатнім для того, щоб діяти як гідрофобний фіксатор.

Придатні активні компоненти може легко визначити будь-який фахівець зі середнім рівнем знань в цій галузі, при цьому названі компоненти можуть включати, наприклад, протизапальні засоби і бронхорелаксанти, а також антигістаміни, інгібітори циклооксигенази, інгібітори синтезу лейкотрієну, антагоністи лейкотрієну, інгібітори фосфоліпази-A2 (ФЛА2), антагоністи фактору агрегації тромбоцитів (ФАТ) та засоби профілактики ядухи. У цьому контексті можуть являти інтерес також антиаритмічні засоби, транквілізатори, серцеві глікозиди, гормони, гіпотензивні засоби, антидіабетики, протипаразитарні і протиракові засоби, седативні засоби, анальгетики, антибіотики, протиревматичні засоби, засоби, що застосовуються для імунотерапії, противірусні препарати, гіпертензивні засоби, вакцини, антивірусні препарати, білки, пептиди та вітаміни.

Специфічно в цьому винаході можуть використовуватися глюкокортикостероїди, такі, як будезонід, дексаметазон, бетаметазон, флуоцинолон, флуметазон, триамцинолону ацетонід, флунізолід, беклометазон та 16,17-ацеталі прегнанових похідних та сполуки, отримані з них; а також β-2 агоністи, такі, як тербуталін, салметерол, салбутамол, формотерол, фенотерол, кленбутерол, прокаторол, бітолтерол та броксаторол. Як активний компонент може також використовуватись суміш фармацевтичне активних речовин; наприклад, суміш глюкокортикостероїду з бронходилататором, таким, як формотерол, салметерол, тербуталін або салбутамол. Для запобігання різночитанню у випадках посилення на активні компоненти, слід вказати, що ці посилення охоплюють фармацевтичне прийнятні ефіри, солі та гідрати активних компонентів.

Коли активний компонент являє собою стероїд, це, більш прийнятно, - стероїдний ефір.

Активний компонент являє собою, більш прийнятно, стероїд та, більш прийнятно, стероїд, що його етерифіковано у 21-ій позиції жирною кислотою, яка включає, принаймні, 8, наприклад, принаймні, 10 або, принаймні, 12 атомів вуглецю. Жирна кислота може містити до 24 атомів вуглецю, зокрема, до 20 або до 18 атомів вуглецю. Ще більш прийнятним є те, щоб активний компонент являв собою стероїд-21-пальмітат, міростат, лаурат, капрат, каприлат або стеарат. Найбільш прийнятним активним компонентом цього винаходу є сполучення (22K)-16α,17α-бутилідендіокси-6α,9α-дифтор-11β-гідрокси-21-пальмітоїлокси-прегнан-4-єн-3,20-діон, рофлепоніду пальмітат.

В тому випадку, коли активний інгредієнт є ефіром, його має бути гідролізовано до активного початку. Було виявлено, що застосування монофазного проліпосомного порошку цього винаходу полегшує протікання необхідного *in situ* гідролізу, тоді як ефіри, що перебувають у кристалічному стані, не гідролізуються.

Якщо бажаною є доставка засобу шляхом інгаляції, якомога більша частина проліпосомного порошку цього винаходу повинна складатися з часток, що мають діаметр менше 10 мікрон, наприклад, 0,01 - 10 мікрон, або 0,1 - 6 мікрон, наприклад, 0,1 - 5 мікрон, або агрегатів таких часток. Більш прийнятним є те, щоб, принаймні, 50% порошку складалося з часток, що вкладаються за розміром у означений діапазон. Так, наприклад, щоб принаймні, 60%, більш прийнятно, принаймні, 70%, ще більш прийнятно, принаймні, 80% і найбільш прийнятно, принаймні, 90% порошку складалося або з часток з розмірами, які відповідають бажаному діапазону, або з агрегатів таких часток.

В проліпосомний порошок цього винаходу не треба вводити інші інгредієнти. Однак, фармацевтичні композиції, що містять порошки цього винаходу, можуть також включати інші фармацевтичне прийнятні добавки, зокрема, ад'юванти, розріджувачі та носії, їх може бути додано до проліпосомної композиції після проведення будь-якого виду мікронізації або до неї, за умови, що розчинник було повністю вилучено. Будь-який носій, що використовується, являє собою, більш прийнятно, кристалічну гідрофільну речовину. Більш прийнятним носієм є кристалічний моногідрат лактози. Інші більш прийнятні носії включають глюкозу, фруктозу, галактозу, трегалозу, сахарозу, мальтозу, рафінозу, мальтит, мелецитозу, стахіозу, лактит, палатиніт, крохмаль, ксиліт, маніт, міоїнозит та інші, включаючи їх гідрати, а також амінокислоти, наприклад, аланін та бетаїн.

Кількість наявних у препараті добавок може варіювати в широкому діапазоні. За деяких обставин може виникати потреба у внесенні дуже малої кількості добавок, або потреба в них може зовсім бути відсутня, а часто більш прийнятним є використання розріджувачів для розведення порошку з метою поліпшення його властивостей, істотних для інгаляції. В останньому випадку, наприклад, принаймні, 50%, зокрема, принаймні, 70% або, принаймні, 80% препарату може складатися з добавок, а лише решта - бути проліпосомним порошком. Процентний вміст добавок може залежати також від ефективності біологічно активного сполучення і оптимальної кількості порошку, що застосовується для інгаляції.

Коли є добавка, зокрема, носій, всю композицію може бути представлено у вигляді часток, які мають розміри, що вкладаються в прийнятний для інгаляції діапазон. Альтернативно, носій може включати грубозернисті частки зі середнім значенням діаметру більше 20 мікрон, або він може містити агрегати дрібніших часток, або агрегати зі середнім діаметром, наприклад, більше 20 мікрон, але в будь-якому випадку утворюється задана суміш проліпосом та носія.

Іншим об'єктом цього винаходу є забезпечення способу приготування проліпосомного порошку відповідно до цього винаходу, тобто способу, здійснення якого дає в результаті монофазний проліпосомний порошок.

В цьому зв'язку цей винахід стосується також способу приготування проліпосомного порошку для інгаляції, що включає розчинення ліпиду або суміші ліпідів та ліпофільного біологічно активного компонента у розчиннику, при цьому зазначений ліпід або суміш ліпідів повинні мати температуру фазового переходу нижчу за 37°C; отримання кристалічної матриці розчинника з єдиною ліпідною фазою, яку включено до неї, що переходить при заморожуванні у склоподібний стан, при цьому означене заморожування здійснюється при температурі нижче температури фазового переходу ліпідної фази; і після цього випаровування замороженого розчинника при температурі нижчій за температуру фазового переходу ліпідної фази.

Заморожування розчину і випаровування розчинника може бути здійснено стандартним способом, зокрема, шляхом традиційної ліофілізації. Так, наприклад, розчин ліпідів та біологічно активного компонента можна влити на полиці в камері для ліофілізації і знизити температуру для заморожування розчину. Випарити розчинник можна потім, наприклад, при зниженні тиску в камері для ліофілізації; отриманий порошок зіскрібають з полиць камери з подальшим необов'язковим пропусканням його крізь сито. Ліофілізований порошок, якщо треба, піддають подальшій обробці з метою отримання часток, що мають розмір в діапазоні, прийнятному для інгаляції; так, наприклад, ліофілізований порошок може бути подрібнено з отриманням придатних для інгаляції часток, і зробити це можна за допомогою, наприклад, повітряструмінного млину.

Заморожування розчину біологічно активного компоненту та ліпідів здійснюється у такий спосіб, щоб отримати єдину ліпідну фазу в матриці замороженого розчинника. Процес утворення монофазної ліпідної системи регулюється кінцевою температурою і швидкістю заморожування розчину; оптимальна швидкість заморожування будь-якого розчину, що використовується, повинна являти собою щось середнє між часом, необхідним для кристалізації наявного розчинника, і часом, необхідним для кристалізації ліпідів і активного компонента, і її може бути визначено кожним фахівцем зі середнім рівнем знань у цій галузі просто методом проб і помилок. Оптимальне значення кінцевої температури повинно бути на 10 - 20°C нижче температури переходу ліпідної фази з склоподібного стану. При цьому для оцінки кристалічного стану може бути використано метод порошкової рентгенографії, а для дослідження ступеня включення біологічно активного компонента у ліпосому після гідратації можна використати диференційний скануючий калориметр.

Розчинник повинен мати розчинувальну спроможність, достатню для того, щоб повністю розчинити ліпід і біологічно активний компонент, оскільки дуже важливо, щоб всі компоненти перейшли в розчин до початку заморожування для того, щоб уникнути осадження часток або розділення фаз, що може призвести до утворення порошку, який включає більше ніж одну фазу. Крім того, розчинник повинен мати прийнятні токсикологічні характеристики, мати придатну точку замерзання і, більш прийнятно, - високий тиск пари. Розчинник може являти собою, наприклад, органічний розчинник, зокрема, спирт, або суміш водного і органічного розчинників. Більш прийнятним для використання в цьому винаході розчинником є третинний бутанол.

Можна, що не є обов'язковим, створити умови для агрегації порошку у невеликі сферичні частки для того, щоб регулювати когезійні властивості порошку. Розмір сферичних часток повинен бути, більш

прийнятно, не більшим, ніж 1мм у діаметрі; більш великі сферичні частки вилучають, наприклад, при просіюванні. При цьому будь-який такий агломерат повинен бути розсипчастим, що означає його спроможність легко розпадатися на окремі частки за відповідних умов, наприклад, у порошковому інгаляторі.

Проліпосомний порошок цього винаходу використовується для місцевого або системного лікування захворювань і може з цією метою вводитися через верхні і нижні дихальні шляхи, включаючи назальний шлях. Як такий, цей винахід також стосується використання названого проліпосомного порошку в терапії; використання проліпосомного порошку в виробництві медикаменту, що його застосовують для лікування захворювань через дихальний тракт; і способу лікування пацієнта, який потребує такої терапії, що включає введення названому пацієнтові терапевтичне ефективної кількості проліпосомного порошку цього винаходу.

Так, наприклад, проліпосомний порошок цього винаходу може використовуватися для лікування запальних захворювань дихальних шляхів, таких, як ядуха, риніт, альвеоліт, бронхіоліт і бронхіт.

Введення в дихальні шляхи може здійснюватися, зокрема, за допомогою інгалятора, що містить або сухий порошок, або стиснений аерозоль.

Придатні порошкові інгалятори включають дозовані інгалятори, наприклад, інгалятор єдиної дози, відомий під торговою маркою Monohaler®, та інгалятори з кількаразовою дозою, наприклад, дозовані інгалятори для сухого порошку з кількаразовою дозою, що активуються диханням, зокрема, інгалятори з торговою маркою Turbuhaler®.

В тому випадку, коли проліпосомний порошок цього винаходу є найбільш пристосованим для введення шляхом інгаляції, його може бути включено до композицій, які застосовуються для інших форм доставки. Так, наприклад, для застосування в курсі лікування, наприклад, запальних захворювань суглобів, таких, як артрити, шкірних захворювань і захворювань кишечника, можуть вироблятися пероральні форми, форми для місцевого застосування і форми для ін'єкцій.

Наведені нижче приклади надано лише з метою ілюстрації цього винаходу, і вони ніяким чином не обмежують його обсяг.

Приклад 1

Рофлєпоніду пальмітат (10 частин), ДПФХ (63 частини), ДМФХ (24 частини) та НаДПФГ (3 частини) розчинили в третинному бутанолі (1300 частин) при температурі 80°C. Після цього розчин було вилито на полиці в камері для ліофілізації, охолодженої до температури -35°C. Розчин набув цієї температури за 30 хвилин; після чого для індукування сублімації розчинника знизили тиск в камері для ліофілізації. В той час як швидкість сублімації регулюється зниженням тиску і підвищенням температури, в ході всього процесу температура не повинна перевищувати -10°C. Ліофілізацію продовжували до повного вилучення розчинника. Одержаний порошок зішкрібали з полиць камери для ліофілізації та пропускали крізь сито.

Порошок подрібнювали в повітряструмінному млині до отримання часток з розміром меншим за 5мкм. Мікронізований порошок після цього змішували з моногідратом лактози (20 частин порошку: 80 частин моногідрату лактози) при просіянні та подальшій гомогенізації суміші подрібненням її у повітряструмінному млині при зниженому тиску.

Порошкову суміш агломерували в сферичні частки розміром не більше, ніж 1мм, використовуючи стандартну техніку. Більш великі сферичні частки вилучали просіюванням. Агломерованим порошком наповнювали порошкові інгалятори Turbuhaler®.

Приклад 2

Повторювали процедуру Прикладу 1, але час заморожування становив 6 годин, 17 годин і 24 години.

Порівняльний приклад

Ліпіди та активний компонент з Прикладу 1 просто змішують сухими один з одним. Отриманий порошок являє собою багатофазну систему, що включає окремі частки активного компонента і ліпідів.

Приклад 3

Повторюють процедуру Прикладу 1, використовуючи такі суміші ліпідів, які мають температуру фазового переходу нижчу за 37°C.

ДПСМ/ДПСМ

я-лецитин/ холестерин

с- лецитин/ холестерин

Приклад 4

Повторюють процедуру Прикладу 1, використовуючи такі активні компоненти:

Рофлєпонід-21-мірксат;

Рофлєпонід-21-лаурат;

Рофлєпонід-21-капрат;

Рофлєпонід-21-каприлат;

Рофлєпонід-21-стеарат.

Аналіз порошку

Аналіз методом порошкової дифракції рентгенівського випромінювання, який було проведено на порошковій суміші Прикладів 1 та 2, показав, що в означених порошках були відсутні компоненти у кристалічному стані. Тоді як порошок з порівняльного прикладу містив активний компонент в кристалічному стані.

Включення активного компоненту до ліпосом

Проводили гідратацію проліпосомних порошоків з Прикладів 1 та 2 і вимірювали ступінь включення активного компонента, використовуючи методи диференційної скануючої калориметрії (ДСК). Результати дослідження за допомогою ДСК показали, що активний компонент був повністю включеним

в ліпосоми. Тоді як ДСК-аналіз порошку з порівняльного прикладу виявив, по суті, відсутність включення активного компонента в ліпосоми.

Гідроліз ефірів

Досліджували рівень гідролізу проліпосомного порошку з Прикладу 1 та порівняльного прикладу до активного начала. Проліпосомні порошки з Прикладів 1 і 2 та порівняльного прикладу (в кожному випадку беруть по 50мкМ стероїдного ефіру) гідратували доданням води та нагрівали до температури 50°C протягом 15 хвилин. Після цього зразки інкубували при температурі 37°C в присутності ліпази з підшлункової залози свині (2мг/мл) у буфері (1мМ ЕДТА, 80мМ КС1, 10мМ НЕРЕС, рН 7,4) та періодично руйнували суміш ультразвуком сеансами різної тривалості, аж до 120 хвилин. Далі зразки аналізували методами ВЕРХ для визначення рівня гідролізу ефіру до активного начала.

94% проліпосомного порошку Прикладу 1 гідратували до активного начала, тоді як в порошок з порівняльного прикладу ця величина дорівнювала лише 2%.

Фармакологічні дослідження

Протинабрякову ефективність препарату досліджували на щурах у рамках моделі з використанням Сефадексу (Kallstrom L. et al., Agents and Actions, 1985, 17 (3/4), 355).

Зразки порошоків з Прикладу 1 та порівняльного прикладу суспендували в холодному фізрозчині та проводили інтратрахеальну ін'єкцію у ліву легеню самцям щурів Sprague-Dawley. За одну годину після ін'єкції провокували запальний процес шляхом інтратрахеальної інстиляції гранул Сефадексу (5мг/кг) і в ліву, і у праву легеню. За 20 годин проводили кількісну оцінку інтерстиціального набряку, що розвився, зважуючи праву і ліву легені. Зменшення ваги легені розглядали як показник фармакологічної дії порошоків. Вага легені у тварин, яким вводили проліпосомний порошок з Прикладу 1, була у 40 раз меншою за вагу легені у щурів, яких лікували порошком з порівняльного прикладу: а це означає, що ефективність проліпосомного порошку цього винаходу у 40 раз вища за ефективність порошку з порівняльного прикладу.

Дослідження інгаляції порошоків

Собак Бігль анестезували, інтубували та обробляли аерозольним порошком, що мав композицію Прикладу 1 або порівняльного прикладу. Аерозоль утворювався з порошкових таблеток за допомогою приладу Wright Dust Feed, працюючого зі швидкістю 1800об/хвил. В процесі інгаляції реєстрували концентрацію аерозолю (Casella 950 AMS), дихальний об'єм, об'єм вдиху та частоту дихання. Для інгаляції було використано рофлепоніду пальмітат в дозі 25мг/кг ваги тіла. Після інгаляції регулярно відбирали зразки плазми. Біологічну доступність обчислювали шляхом порівняння плазмових концентрацій рофлепоніду з такими, що спостерігалися після його внутрішньовенного введення. Біологічна доступність рофлепоніду після введення порошку з Прикладу 1 була близькою до 100%, тоді як біологічна доступність рофлепоніду, що її визначали в плазмі після введення порошку з порівняльного прикладу, не піддавалася вимірюванню.