



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 122322

(13) U

(51) МПК

A61K 36/77 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61P 9/14 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21)** Номер заявки: **u 2017 09918****(22)** Дата подання заявки: **13.10.2017****(24)** Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **26.12.2017****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **26.12.2017, Бюл.№ 24****(72)** Винахідник(и):**Бабич Ігор Віталійович (UA),
Кравчук Жанна Миколаївна (UA),
Юрченко Леся Іванівна (UA)****(73)** Власник(и):**ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "АРТЕРІУМ ЛТД",
вул. Саксаганського, 139, м. Київ, 01032
(UA)****(74)** Представник:**Кукшина Тетяна Архипівна, реєстр. №88****(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ З ПРОТИНАБРЯКОВОЮ, ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ТА ЗНЕБОЛЮЮЧОЮ ДІЄЮ****(57)** Реферат:

Спосіб отримання лікарського засобу на основі солі сапонінів есцину та амінокислоти L-лізину - L-лізину есцинату - з протинабряковою, протизапальною та знеболюючою дією включає стадії приготування розчину L-лізину есцинату, фільтрації, ампулювання та стерилізації. Стадію приготування розчину L-лізину есцинату реалізують шляхом розчинення L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим доведенням рН розчину до 5,5-6,0 та внесенням пропіленгліколю.

UA 122322 U

Корисна модель належить до медицини та фармацевтичної промисловості, зокрема до створення готових лікарських засобів у формі розчинів для ін'єкцій на основі солі сапонінів есцинату амінокислоти L-лізину - L-лізину есцинату.

L-лізину есцинат - це водорозчинна сіль сапонінів плодів каштану кінського (есцинів) та амінокислоти L-лізину (хімічна назва - L- α , ϵ -діамінокапронової кислоти 28-(3-ацетокси-2-метилбутират)-есцигенін-3-О-(2'-О- β -D-ксилопіранозил-4'-О- β -D-глюкопіранозил)глюкуронідат).

Відомими є властивості есцину - сапоніну каштану кінського: знижувати судинну проникність [Matsuda H., Li Y., Murakami T., Ninomiya K., Yamahara J., Yoshikawa M. Effectsofescinsla, lb, Ha, andllbfromhorsechestnut, theseedsof Aesculushippocastanum L., onacuteinflammationinanimals. // Biol PharmBull. 1997 Oct;20(10): 1092-5], у тому числі за рахунок стабілізації ендотеліоцитів [Arnould T., Janssens D., Michiels C, Remade J. Effectofaescineon hypoxia-induced activationofhumanendothelialcells. // Eur J Pharmacol. 1996 Nov 14;315(2):227-33] та чинити проти набряковий ефект. Також відомим є застосування водорозчинних солей есцину у вигляді внутрішньовенних ін'єкцій при лікуванні черепно-мозкової травми, що супроводжується набряком мозку [Put T. Advancesintheconservative treatmentofacutetraumaticcerebraledema. Controlledclinicaltrialwith follow-up examination. MMW MunchMedWochenschr 1979; 121(31):1019-22], а також при лікуванні посттравматичних і постопераційних набряків м'яких тканин [Wilhelm K, Feldmeier C. Thepreventionandtreatmentofpostoperativeand post-traumaticoedema. Chemicallaboratorytestsontherenaltoleranceof beta-aescin (reparil) (author'stransl). MedKlin. 1975 Dec 19;70(51-52):2079-83]. Позитивні результати такого лікування були підтверджені результатами клінічних досліджень. Крім того, за даними експериментальних та клінічних досліджень, препарати есцину мають не тільки протинабрякову, але й протизапальну та знеболюючу дію [Sirtori C.R. Aescin: pharmacology, pharmacokineticsandtherapeuticprofile. // Chem Pharm Bull (Tokyo).-2001 May.-49(5)]. Водорозчинна сіль сапонінів есцину - L-лізину есцинат - знижує активність лізосомальних гідролаз, що запобігає розщепленню мукополісахаридів у стінках капілярів та у сполучній тканині, яка їх оточує, і тим самим нормалізує підвищену судинну та тканинну проникність і проявляє антиексудативну (протинабрякову) дію [Mary C. McLellan Horse Chestnut (Aesculushippocastanum). Longwood Herbal Task Force.

The Centerfor Holistic Pediatric Educationand Research.-2000.- 17 p.; Chajka L., Georgievsky V., Spasithenko P. etal. L-Lysine escinat pharmacologyandclinicaleffects / ArchivesofPharmacology. 1998. V. 358, N 1, Suppl. 2. (XIII Intemational Congressof Pharmacology, July 1998, Munchen, Germany). - p.512.].

Недоліком використання сапонінів есцину є помірна стабільність водних препаратів на їх основі через тенденцію до трансізомеризації терапевтично активного β -есцину з утворенням менш активного α -есцину.

Головними компонентами суміші сапонінів есцину є β -есцин, α -есцин та криптоесцин [УНО monographsonselectedmedicinalplants // WHO Library Cataloguingin Publication Data. - 1999. - Vol. 1. - P.140]. β -есцин є сумішшю більше ніж 30 різних глікозидів, мажорними серед яких є есцин Ia та есцин Ib. Мажорними компонентами α -есцину є ізоесцин Ia та ізоесцин Ib. β -есцин у водних розчинах трансізомеризується до α -есцину, причому при температурах 60-90 °C і pH близько 5-7 цей процес інтенсифікується [патент US3, 450,691]. Оскільки терапевтичний ефект сапонінів есцину зумовлений в основному присутністю β -есцину, при застосуванні теплової стерилізації таких лікарських засобів необхідно враховувати необхідність стабілізації есцину у терапевтично активній формі.

Відомості щодо способів виробництва готових ін'єкційних розчинів L-лізину есцинату і, зокрема, щодо стабілізації β -есцину у водних розчинах, у загальнодоступних джерелах не висвітлені.

В основу корисної моделі поставлена задача створення оптимального способу отримання готового лікарського засобу на основі солі сапонінів есцинута амінокислоти L-лізину- L-лізину есцинату - у формі розчину для ін'єкцій, який дозволить підвищити стабільність лікарського засобу за рахунок зниження швидкості трансізомеризації β -есцину до α -есцину.

У ході досліджень було несподівано виявлено, що спектр індивідуальних компонентів препарату - сумарного β -есцину та сумарного α -есцину - після проведення термічної стерилізації залежить, в тому числі, від умов розчинення субстанції L-лізину есцинату. Найменш значне зниження вмісту сумарного β -есцину після стерилізації спостерігалось у зразках препарату, отриманих шляхом розчинення субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртових сумішах за температури не більше 20 °C з подальшим доведенням pH отриманого розчину до 5,5-6,0 та внесенням пропіленгліколю для гасіння піни.

Поставлена задача вирішується шляхом розробки способу отримання лікарського засобу на основі L-лізину есцинату, що включає стадії приготування розчину, фільтрації, ампулювання та

стерилізації, при якому зниження швидкості трансізомеризації β -есцину до α -есцину забезпечується шляхом розчинення субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим доведенням рН розчину до 5,5-6,0 та внесенням пропіленгліколю.

Система розчинників, згідно з корисною моделлю, може включати 96 % етиловий спирт, пропіленгліколь та воду для ін'єкцій у співвідношенні 20-25: 20-25: 50-60. Концентрація L-лізину есцинату в готовому розчині може становити 0,9-1,1 мг/мл.

Спосіб приготування розчину на основі L-лізину есцинату, згідно з корисною моделлю, включає наступні стадії: 1) приготування охолодженої до температури 18-20 °С водно-спиртової суміші, що містить спирт етиловий та воду для ін'єкцій, 2) розчинення L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші, що містить спирт етиловий та воду для ін'єкцій, протягом 5-7 хвилин за температури не більше 20 °С, 3) доведення рН розчину до 5,5-6,0, 4) погашення піни шляхом введення попередньо охолодженого до 18-20 °С пропіленгліколю, 5) доведення до потрібного об'єму водою для ін'єкцій, попередньо охолодженою до 18-20 °С.

Суть корисної моделі проілюстрована фігурами і прикладами, наведеними нижче.

Фіг. 1 показує хроматограму профілю есцинів в зразку, одержаному розчиненням субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим внесенням пропіленгліколю.

Фіг. 2 показує хроматограму профілю есцинів в зразку, одержаному розчиненням субстанції L-лізину есцинату у воді з подальшим внесенням етилового спирту та пропіленгліколю.

Фіг. 3 показує хроматограму профілю есцинів в зразку, одержаному розчиненням субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим встановленням значення рН розчину 5,5 та внесенням пропіленгліколю.

Фіг. 4 показує хроматограму профілю есцинів в зразку, одержаному розчиненням субстанції L-лізину есцинату з подальшим встановленням значення рН розчину 8,0 та внесенням пропіленгліколю.

Приклади

Приклад 1: Спосіб отримання лікарського засобу у формі розчину для ін'єкцій на основі L-лізину есцинату

Стадія 1. Приготування розчину L-лізину есцинату.

1.1. Приготування водно-спиртової суміші. У реактор завантажують 300 л води для ін'єкцій, охолоджують її до температури 18-20 °С, додають 200 кг 96 % етилового спирту та перемішують протягом 3-5 хвилин до утворення однорідної водно-спиртової суміші, підтримуючи температуру розчину на рівні не більше 20 °С.

1.2. Розчинення L-лізину есцинату. До отриманої водно-спиртової суміші додають 1 кг L-лізину есцинату та перемішують 5-7 хвилин до повного розчинення. Температуру розчину підтримують на рівні не більше 20 °С.

1.3. Доведення рН розчину до рН 5,5-6,0. рН отриманого на попередній стадії розчину доводять до значень 5,5-6,0.

1.4. Погашення піни. До отриманого розчину L-лізину есцинату додають 200 кг пропіленгліколю, попередньо охолодженого до температури 18-20 °С, та перемішують 3-5 хвилин до повного погашення піни.

1.5. Доведення до потрібного об'єму. При вимкненій мішалці після встановлення постійного об'єму в реактор додають попередньо охолоджену до температури 18-20 °С воду для ін'єкцій до 1000 л та перемішують не менше 15 хвилин.

Слідкують, щоб температура розчину на всіх стадіях не перевищувала 20 °С.

Стадія 2. Фільтрація. Розчин фільтрують послідовно через фільтр грубої фільтрації з порогом затримання частинок 1 мкм та фільтр тонкої фільтрації з порогом затримання частинок 0,2 мкм за температури не більше 20 °С.

Стадія 3. Ампулювання. Розчин ампулюють у стерильні ампули на лінії автоматичного ампулювання за температури не більше 20 °С.

Стадія 4. Стерилізація. Ампули з розчином стерилізують за температури 121 °С протягом 15 хвилин. Проводять перевірку ампул на герметичність 0,0025 % розчином метиленового синього та передають на проведення подальших технологічних операцій (пакування та маркування).

Приклад 2: Дослідження впливу послідовності приготування розчину L-лізину есцинату на профіль індивідуальних компонентів препарату - сумарного β -есцину (суми есцину Ia та есцину Ib) та сумарного α -есцину (суми ізоесцину Ia та ізоесцину Ib)

Для проведення дослідження впливу способу приготування розчину L-лізину есцинату на профіль індивідуальних компонентів препарату - сумарного β -есцину (суми есцину Ia та есцину Ib) та сумарного α -есцину (суми ізоесцину Ia та ізоесцину Ib) – після фінішної термічної стерилізації лікарського засобу за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії відбирають зразки лікарського засобу:

отримані способом відповідно до даної корисної моделі (розчиненням субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим внесенням пропіленгліколю);

отримані розчиненням субстанції L-лізину есцинату у воді з подальшим внесення метилового спирту та пропіленгліколю.

Зразки були проаналізовані методом вискоєфективної рідинної хроматографії із використанням колонки C 18 та системи розчинників ацетонітрил, метанол, 1 % розчин фосфорної кислоти в градієнтному режимі елювання. Детектування здійснювалось за допомогою УФ-детектора при довжині хвилі 220 нм.

Результати досліджень наведені в Таблиці 1. На Фіг. 1 і 2 наведені репрезентативні хроматограми.

Таблиця 1

Співвідношення есцинів в розчинах L-лізину есцинату
в залежності від послідовності приготування розчину субстанції.

Приготування розчину	Вміст есцинів			
	β	α	Неідентифіковані	β/α
Розчинення субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим внесенням пропіленгліколю	71,1	9,1	19,8	7,8
Розчинення субстанції L-лізину есцинату у воді з подальшим внесенням етилового спирту та пропіленгліколю	69,3	10,1	20,6	6,9

Таким чином, результати досліджень демонструють, що співвідношення сумарного β -есцину до сумарного α -есцину після фінішної термічної стерилізації є вищим у випадку розчинення L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим внесенням пропіленгліколю, ніж у випадку розчинення у воді з подальшим внесенням етилового спирту та пропіленгліколю. Тому для уповільнення процесу трансізомеризації β -есцину до α -есцину доцільно розчиняти субстанцію L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим внесенням пропіленгліколю.

Приклад 3: Дослідження впливу pH отриманого розчину L-лізину есцинату на спектр індивідуальних компонентів препарату - сумарного β -есцину (суми есцину Ia та есцину Ib) та сумарного α -есцину (суми ізоесцину Ia та ізоесцину Ib)

Для проведення дослідження впливу pH отриманого розчину L-лізину есцинату на спектр індивідуальних компонентів препарату - сумарного β -есцину (суми есцину Ia та есцину Ib) та сумарного α -есцину (суми ізоесцину Ia та ізоесцину Ib) - після фінішної термічної стерилізації лікарського засобу за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії відбирають зразки лікарського засобу:

отримані способом відповідно до даної корисної моделі (розчиненням субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші та доведенням pH розчину до 5,5-6,0 з подальшим внесенням пропіленгліколю);

отримані розчиненням субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші та доведенням pH розчину до 6,0-8,0 з подальшим внесенням пропіленгліколю.

Зразки були проаналізовані методом вискоєфективної рідинної хроматографії із використанням колонки C 18 та системи розчинників ацетонітрил, метанол, 1 % розчин фосфорної кислоти в градієнтному режимі елювання. Детектування здійснювалось за допомогою УФ-детектора при довжині хвилі 220 нм.

Результати досліджень наведені в Таблиці 2. На Фіг. 3 і 4 наведені репрезентативні хроматограми.

Таблиця 2

Співвідношення есцинів в розчинах L-лізину есцинату в залежності від рН отриманого розчину (рН 4,0-8,0) при зберіганні при температурі (20±3)°C.

Час, год.	Співвідношення р/а есцинів					
	рН 4,0	рН 5,0	рН 5,5	рН 6,0	рН 7,0	рН 8,0
0,0	7,3	7,1	7,4	7,3	7,0	6,8
4,0	7,9	7,9	7,8	7,6	6,5	5,7
8,0	8,0	8,0	8,4	8,4	6,4	4,6
12,0	8,0	7,9	8,5	8,4	6,1	3,9
24,0	7,9	7,3	7,2	7,1	5,1	3,1

Результати досліджень демонструють, що зі зростанням рН отриманого розчину L-лізину есцинату вище значення 6,0 після фінішної термічної стерилізації зменшується вміст сумарного β-есцину, а вміст сумарного α-есцину, навпаки, збільшується. Зниження рН розчину менше значення 5,5 призводить до погіршення інших показників якості лікарського засобу. На основі цих даних був вибраний оптимальний діапазон рН отриманого розчину субстанції L-лізину есцинату, що дозволяє максимально уповільнити процес трансізомеризації β-есцину до α-есцину, - 5,5-6,0.

Таким чином, експериментально показано, що найбільш значне зниження швидкості трансізомеризації β-есцину до α-есцину в розчинах L-лізину есцинату вдається досягнути за рахунок розчинення субстанції L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші, що містить спирт етиловий та воду для ін'єкцій, з подальшим доведенням рН розчину до 5,5-6,0 та внесенням пропіленгліколю.

Враховуючи вищенаведені дані, можна стверджувати, що корисна модель, що заявляється, виконує поставлену задачу щодо створення оптимального способу отримання лікарського засобу на основі солі сапонінів есцинату амінокислоти L-лізину (L-лізину есцинату) з протинабряковою, протизапальною та знеболюючою дією у формі розчину для ін'єкцій, який дозволить підвищити стабільність лікарського засобу за рахунок зниження швидкості трансізомеризації β-есцину до α-есцину.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб отримання лікарського засобу на основі солі сапонінів есцину та амінокислоти L-лізину - L-лізину есцинату - з протинабряковою, протизапальною та знеболюючою дією, який включає стадії приготування розчину L-лізину есцинату, фільтрації, ампулювання та стерилізації, який **відрізняється** тим, що стадію приготування розчину L-лізину есцинату реалізують шляхом розчинення L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші з подальшим доведенням рН розчину до 5,5-6,0 та внесенням пропіленгліколю.

2. Спосіб отримання лікарського засобу за п. 1, який **відрізняється** тим, що стадія приготування розчину L-лізину есцинату включає наступні етапи:

- приготування охолодженої до температури 18-20 °C водно-спиртової суміші, що містить спирт етиловий та воду для ін'єкцій;

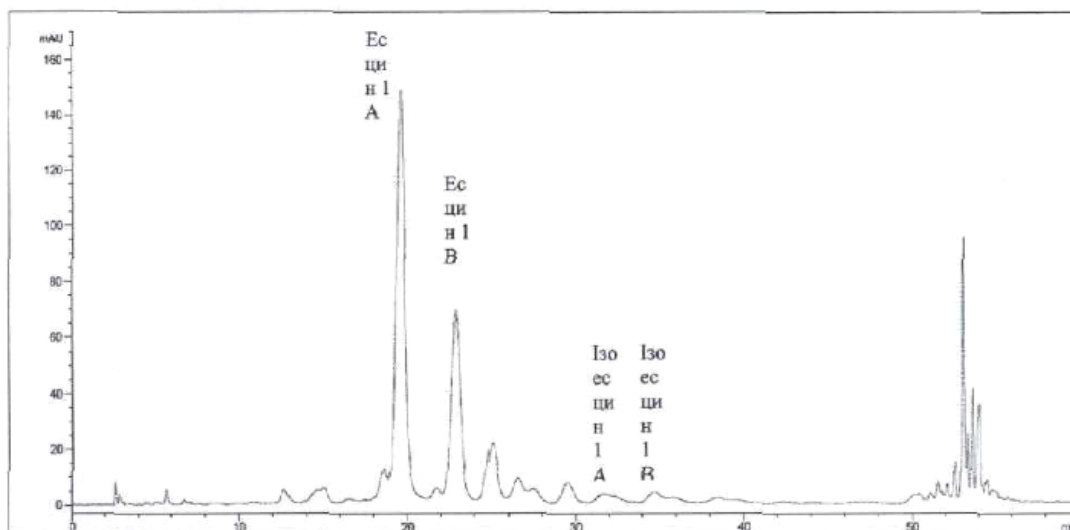
- розчинення L-лізину есцинату у водно-спиртовій суміші, що містить спирт етиловий та воду для ін'єкцій, протягом 5-7 хвилин за температури не більше 20 °C;

- доведення рН отриманого на попередній стадії розчину до значень 5,5-6,0;

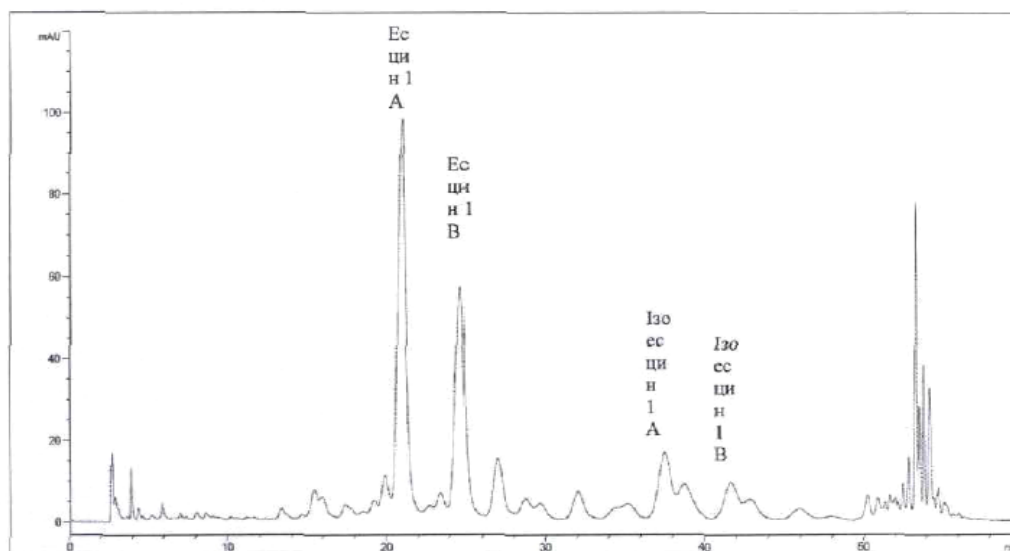
- погашення піни шляхом введення попередньо охолодженого до 18-20 °C пропіленгліколю;

- доведення до потрібного об'єму водою для ін'єкцій, охолодженою до температури 18-20 °C.

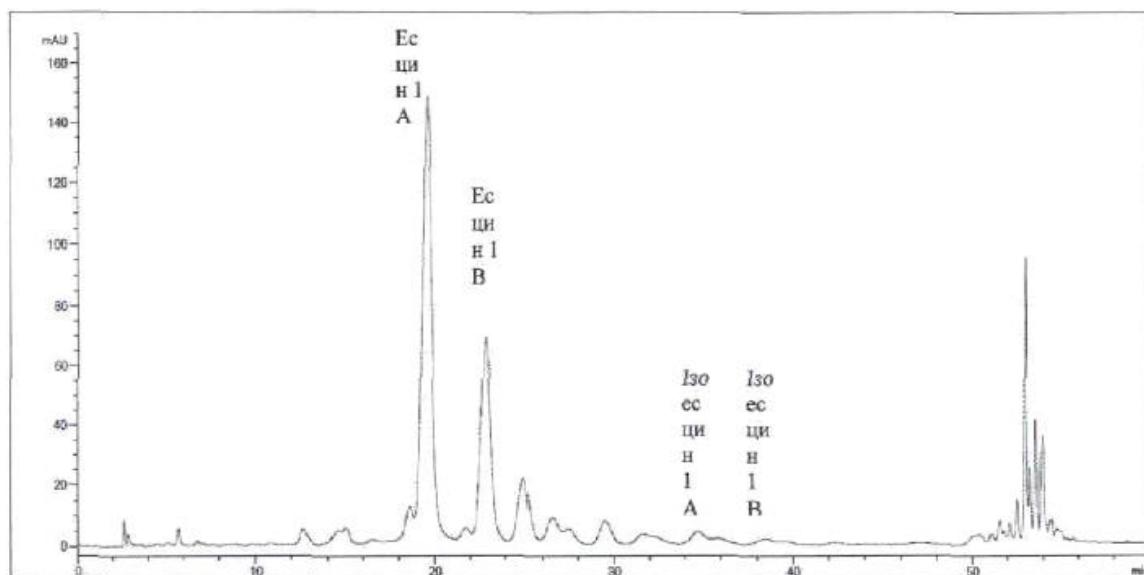
3. Спосіб отримання лікарського засобу за пп. 1-2, який **відрізняється** тим, що система розчинників включає 96 % етиловий спирт, пропіленгліколь та воду для ін'єкцій у співвідношенні 20-25:20-25:50-60, а концентрація L-лізину есцинату в готовому розчині становить 0,9-1,1 мг/мл.



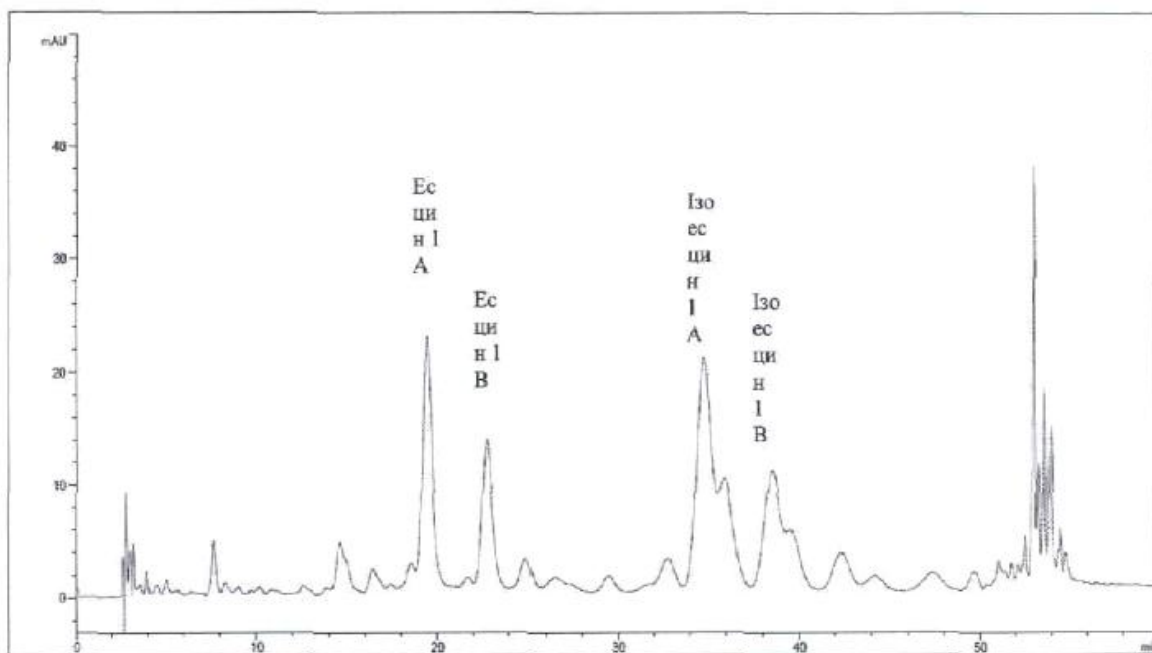
Фиг. 1



Фиг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601