



УКРАЇНА

(19) UA (11) 80373 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 38/21

A61K 47/00

A61K 9/08

A61P 27/02 (2007.01)

A61P 31/12 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) РОЗЧИН ІНТЕРФЕРОНУ ДЛЯ НАЗАЛЬНОГО ТА ОЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

1	2
(21) a200609049	трис(гідроксиметил)амінометану гідрохлорид, лі-
(22) 15.08.2006	зину гідрохлорид та калію хлорид, як сурфактант -
(24) 10.09.2007	полісорбат 80, при такому співвідношенні компо-
(46) 10.09.2007, Бюл. №14, 2007р.	нентів, мас. %:
(72) Костюк Григорій Вікторович, Борщевська Ма-	інтерферон 1×10^8 МО/100 мл
рина Іллінічна, Жебровська Філя Іванівна	трис(гідроксиметил)аміно
(73) ВІДКРИТЕ АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО "ФА-	метан 0,55-0,75
РМАК"	трис(гідроксиметил)аміно
(56) RU C1 2140286, 27.10.1999.	метану гідрохлорид 0,045-0,065
UA C2 39712, 12.09.2004.	гідроксипропілметилце-
US A1 2004/0258663, 23.12.2004.	люлоза 0,1-0,5
RU C1 2270692, 27.02.2006.	етилендіамінтетраоцтової
RU C2 2218934, 20.12.2003.	кислоти динатрієва сіль 0,01-0,04
(57) Розчин інтерферону для назального та очного	лізину гідрохлорид 0,45-0,75
застосування, який містить інтерферон, стабіліза-	калію хлорид 0, 3-0,5
тор, буфер, антиоксидант, сурфактант, ніпагін як	полісорбат 80 0,1-0,15
консервант та воду, який відрізняється тим, що	ніпагін 0,033
як стабілізатор розчин містить гідроксипропілме-	вода високоочищена решта.
тилцелюлозу та лізину гідрохлорид, як буфер -	
трис(гідроксиметил)амінометан,	

Винахід стосується фармації, зокрема розчину інтерферону, який може бути використаний для створення рідких лікарських форм - ін'єкційних, назальних, очних.

Відомий рідкий препарат інтерферону - очні краплі на основі інтерферону [Патент України №39712, Кл.А61К38/21, А61К47/38, А61Р27/02, публ.2004р.], які містять інтерферон, МО (10^5 - 6×10^6), стабілізатор - декстран (0,04-0,055 г), фосфатний буфер (до рН 4,0-8,0) і розчинник, причому інтерферон, стабілізатор і фосфатний буфер перебувають у вигляді ліофілізату, об'ємне співвідношення ліофілізату і розчинника становить 1:1. В якості розчинника використано воду, водний розчин 0,01% декаметоксину, 0,1% розчин ніпагіну. Очні краплі додатково можуть містити параамінобензойну кислоту у кількості 0,05-0,09мг у 1 мл водного розчину для ліофільного сушіння. Як буфер очні краплі містять суміш натрію фосфорнокислого двозаміщеного і лимонну кислоту або су-

міш натрію фосфорнокислого двозаміщеного, калію фосфорнокислого однозаміщеного і натрію хлориду. Як розчинник краплі містять воду або водний розчин 0,01% декаметоксину, або водний розчин 0,1% ніпагіну.

Проте цей препарат стабільний тільки у формі ліофілізату, а у розчині при зберіганні на холоді можлива його дестабілізація. Ніпагін погано розчиняється в воді, при змішуванні з ліофілізатом і на холоді може випадати в осад, а в концентрації 0,1% володіє цитотоксичністю, що заважає визначенню активності інтерферону. Крім того препарат має побічні ефекти. Зокрема відомо, що лимонна кислота може викликати подразнення слизових оболонок дихальних шляхів і очей, використання параамінобензойної кислоти обмежує можливість використання різних первинних упаковок, оскільки остання може взаємодіяти з упаковкою, декстрини можуть давати різні алергічні і псевдо алергічні реакції, а використання в якості буферу суміші

(13) C2

(11) 80373

(19) UA

натрію фосфорнокислого двоаміщеного або калію фосфорнокислого одно заміщеного знижує активність інтерферону.

Крім того такий препарат є незручним у користуванні, зокрема користувачу необхідно відкрити його і розчинити розчинником, при цьому порушується стерильність препарату.

Відомий також рідкий препарат інтерферону [Патент РФ №2255729, Кл. А61К9/08; А61К38/19, публ. 2005 р.], який містить, мкг/мл: інтерферон альфа - $(1-15) \times 10^6$ МЕ, натрію ацетат - 1230-1640, ЕДТА або динатрієву сіль - 60-80, натрію хлорид - 5800-7500, твин 80 - 100-150, декстран або реополіглюкін (в перерахунку на декстран) - 40000-100000, вода для ін'єкцій до 1мл.

Такий розчин є достатньо стабільним та має менше побічних ефектів, проте наявність в ньому декстрану також може призводити до появи різних алергічних і псевдоалергічних реакцій.

Прототипом вибраний засіб - очні краплі „Офталшоферон” [Патент РФ № 2140286, Кл. Л61К38/21, публ. 1999р.], який містить рскомбінантний інтерферон, стабілізатор біологічних фізико-хімічних властивостей і/або стійкості до мікробної контамінації і буферну суміш, при такому співвідношенні компонентів: рекомбінантний інтерферон, МН до 100000, стабілізатор, г, 0,00005-0,2, буферна суміш, мл - решта. Як стабілізатор вони містять полівінілпіролідон або полівініловий спирт, або похідне метилцелюлози (Ка КМЦ) і ніпагін або четвергичні амонійні сполуки або хлортексилін. Використовують альфа- бета-або гамма-інтерферон. Очні краплі додатково містять антиоксидант і димедрол.

Проте відомо, що речовини полівінілпіролідону є токсичними, нестабільними та викликають часті алергічні реакції. Тому цей препарат додатково містить дімідрол. Крім того ніпагін в кількості 0,0015г на 1мл володіє цитотоксичною дією.

В основу винаходу поставлене завдання розробити стабільний розчин інтерферону з мінімальними побічними ефектами.

Поставлене завдання досягається запропонованим розчином інтерферону, який містить інтерферон, стабілізатор, буфер, та воду, згідно з винаходом в якості стабілізатора розчин містить гідроксіпропілметилцелюлозу та лізину гідрохлорид, як буфер - трис (трис-(гідроксиметил)амінометан, гідрохлориду (трис-(гідроксиметил)амінометан, лізину гідрохлорид та калію хлорид, додатково містить, етилендіамінтетраоцтової кислоти динатрієву сіль, полісорбат 80 при такому співвідношенні компонентів, мас. %:

Інтерферон	15x108МО/100
Трис (трис-(гідроксиметил)амінометан	0,55-0,75
Гідрохлориду (трис-(гідроксиметил)амінометан	0,045-0,065
Гідроксіпропілметилцелюлоза	0,1-0,5
Етилендіамінтетраоцтової кислоти динатрієва сіль	0,01-0,04
Лізину гідрохлорид	0,45-0,75
Калію хлорид	0, 3-0,5

Полісорбат 80

0,1-0,15

Вода високо очищена

решта

Як інтерферон використовують альфа-, бета-або гамма-інтерферон людини або альфа-, бета-або гама-рекомбінантний інтерферон.

Одними з компонентів буферної системи є трис (трис-(гідроксиметил)амінометан) та гідрохлориду (трис-(гідроксиметил)амінометан, які здатні регулювати кислотно-лужну рівновагу, практично нетоксичні, входять до складу парентеральних препаратів, які використовуються в якості триметолових солей та не впливають на активність інтерферону в процесі зберігання. Лізину гідрохлорид - амінокислота, яка входить до складу молекули інтерферону в різних ділянках білкової молекули та за рахунок надлишку попереджує гідроліз білкової молекули. Полісорбат 80 - неіоногенна поверхнево-активна речовина захищає білки від фізичної і хімічної дестабілізації, не взаємодіє з упаковкою, а також захищає саму молекулу інтерферону від денатурації і агрегації на її поверхні. Етилендіамінтетраоцтова кислота динатрієва сіль - хелотуючий засіб, який утворює комплекси з іонами металів у розчині, що запобігає реакції розщеплення білка за рахунок взаємодії з іонами металів. В якості консерванта використаний ніпагін, який не впливає на стабільність молекули інтерферону в розчині та традиційно використовується в якості консерванта в назальних і очних краплях. Експериментальне встановлено, що концентрація ніпагіну 0,033% при зберіганні 2-8° забезпечує антимікробну дію консерванту протягом 7-10 днів (термін використання первинної упаковки лікарського засобу). Калію хлорид є ізотонізуючим агентом і гарантує отримання ізотонічного складу. Речовини гідроксіпропілметилцелюлоза, лізину гідрохлорид та полісорбат 80 використані також і для захисту антивірусної активності.

Комбінація всіх допоміжних речовин забезпечує біологічну, хімічну і фізичну стабільність розчину інтерферону протягом 2,5-х років зберігання. Інтерферон зберігається в первинній формі - коливання діючої речовини в процесі зберігання може знаходитися у границях від 85 до 100% (інтактна форма).

Приклад виготовлення розчину

В реактор, обладнаний мішалкою і охолоджувальною сорочкою, завантажують 46л води для ін'єкцій з температурою 20-25°C і додають 15,5г ніпагіну. Перемішують до повного розчинення. Потім послідовно додають 32г трис-(трис-(гідроксиметил)амінометану, 352,5г гідрохлориду трис-(трис-(гідроксиметил)амінометану, 365г лізину гідрохлориду, 25г етилендіамінтетраоцтової кислоти динатрієвої солі, 235г калію хлориду. Перемішують розчин протягом 10-15 хвилин. Додають 250г гідроксіпропілметилцелюлози, 5г полісорбату 80 і перемішують до повного розчинення. Охолоджують розчин до температури 6-8°C. Додають розраховану кількість концентрату інтерферону - 10^6 МО/мл, доводять об'єм розчину до 50л, перемішують протягом 40-50 хвилин при температурі 6-8°C та стерильно фільтрують.

Таблиця

Основні показники якості запропонованого розчину інтерферону

Назва показника	Допустимі межі	Фактичне значення	Термін зберігання (роки)		
			1	2	2,3
Специфічна активність	Препарат повинен містити від $9,0 \times 10^6$ - 11×10^6 МО/мл (визначення рівня інтерферону проводять на чутливих культурах клітин L41, МДВК, А-549)	$10,6 \times 10^6$ МО/мл	$10,46 \times 10^6$ МО/мл	$10,1 \times 10^6$ МО/мл	$9,98 \times 10^6$ МО/мл
РН	7,0-7,6	7,2	7,18	7,21	7,15
Стерильність	Повинен бути стерильним (за п. 8, ДФУ2001.П.2.6.1)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає

Антивірусну активність інтерферону визначали на культурі клітин L41 - лімфобластні клітини людини (перещеплювані), МДВК - перещеплювані клітини нирки теляти, А-549 - епітеліоїдні клітини раку легень людини (перещеплювані). Віруси - вірус везикулярного стоматиту - штам Індіана, одержаний з музею вірусів інституту вірусології ім. Д.І.Івановського РАМН (Москва). Інфекційний титр

в культурі тканин L41 складав 4,0-5,0 Іг ТЦД₅₀. Стандартний зразок - як препарат порівняння використовували відомий препарат інтерферону з відомою активністю в міжнародних одиницях (МО) - інтерферон 3 млн МЕ [Intron A, 3 million I.U., lyophilized Powder for Injection, Interferon ALFA - 2b, cepiz IIFCA703 (Шеринг Плау)].