



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34115 (13) U

(51) МПК (2006)

A61K 38/28

A61K 47/36

A61K 9/52

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ, ЩО МІСТИТЬ ІНСУЛІН

1

2

(21) u200803545

(22) 19.03.2008

(46) 25.07.2008, Бюл.№ 14, 2008 р.

(72) НОГА ДАВИД АНАТОЛІЙОВИЧ, UA,
МАТВЄЄВ ПАВЛО ГЕОРГІЙОВИЧ, UA, МАРКІН
СЕРГЕЙ СЕРГЄЄВИЧ, БЕРЕНШТЕЙН ДМІТРІЙ
БОРИСОВИЧ, СЕМЬОНОВ МІХАІЛ ПЕТРОВИЧ,
ТАРАСОВ ОЛЕКСАНДР АНДРІЙОВИЧ, UA,
ТАРАСОВА ОЛЬГА МАРАТОВНА, UA, РЕДЬКІН
ІГОР В'ЯЧЕСЛАВОВИЧ, UA(73) НОГА ДАВИД АНАТОЛІЙОВИЧ, UA,
МАТВЄЄВ ПАВЛО ГЕОРГІЙОВИЧ, UA, МАРКІН
СЕРГЕЙ СЕРГЄЄВИЧ, БЕРЕНШТЕЙН ДМІТРІЙ
БОРИСОВИЧ, СЕМЬОНОВ МІХАІЛ ПЕТРОВИЧ,
ТАРАСОВ ОЛЕКСАНДР АНДРІЙОВИЧ, UA,
ТАРАСОВА ОЛЬГА МАРАТОВНА, UA, РЕДЬКІН
ІГОР В'ЯЧЕСЛАВОВИЧ, UA(57) 1. Спосіб одержання фармацевтичної
композиції, що містить інсулін на
полісахаридному носії, що включає змішування
вихідних інгредієнтів, який відрізняється тим, що
на змішування подають позитивно заряджений
золь хітозану з рН, що дорівнює 3,5-4,5, і
негативно заряджений інсулін, що не містить
цинку, узятий у вигляді колоїдного розчину або у
вигляді нанорозмірних кристалічних часток,
доводять рН змішаного золью до 5,5-6,5,
проводять гелювання та зневоднення гелю з
одержанням твердих часток розміром 10-100мкм.
2. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що
гелювання здійснюють за присутності альгілатунатрію у змішаному золі у кількості, що не
перевищує 5%мас., з розрахунку на суху
речовину.3. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що
змішування вихідних інгредієнтів здійснюють з
розрахунку масового відношення інсуліну до
хітозану у змішаному золі, що дорівнює (0,2-
0,8):1, при забезпеченні електронейтральності
змішаного золью.4. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що на
змішування подають позитивно заряджений золь
хітозану в ацетатному буферному розчині з
розміром часток хітозану 200-400нм.5. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що на
змішування подають позитивно заряджений золь
хітозану у вигляді його хлоридату, що має
молекулярну масу 80-120kDa та ступінь
деацетилювання 85-89%.6. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що на
змішування подають інсулін у вигляді
кристалічних часток з розміром 800-1200нм.7. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що на
змішування подають колоїдний розчин інсуліну у
фосфатному буфері з рН, що дорівнює 8,0-9,0.8. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що на
змішування подають хроматографічно очищений
генно-інженерний інсулін, одержаний з
використанням штаму ESCHERICHIA COLI XLI-
BLUE/PINSR як продуцент ПРЕПРОІНСУЛІНУ.

Запропонована корисна модель стосується
галузі одержання лікарських засобів, що містять
активно діючу речовину, сполучену з носієм, і
може бути використаний для одержання
препаратів з регульованим вивільненням
інсуліну.

Останнім часом велика увага приділяється
розробці фармацевтичних препаратів, що
забезпечують контрольоване виділення діючої
речовини, підбору носіїв для активних лікарських
речовин і розробці методів одержання препаратів
у зручній для пацієнта лікарській формі.

(13) U

(11) 34115

(19) UA

Однією з активних лікарських речовин, для яких такі розробки особливо необхідні, є інсулін.

Відомий спосіб одержання стабільної сухої порошкоподібної інсулінової композиції для перорального застосування, що включає розчинення інсуліну та фармацевтичного носія у водному буфері з подальшим сушінням розпилюванням з одержанням аморфних часток із середнім розміром 0,1-10мкм та вмістом вологи менше 10%. при цьому як носій використовують вуглеводи з групи, що складається з маніту, рафінози, лактози, мальтодекстрину, або органічні солі натрію, такі як цитрат, глюконат, аскорбат [RU 2175556, 20.02.1999].

Однак одержаний порошкоподібний засіб призначений тільки для адсорбції інсуліну через легені.

Відомий спосіб отримання фармацевтичної композиції для перорального застосування, що містить інсулін на носії-поліетиленоксиді з молекулярною масою 0,4-40кДа, шляхом попереднього високоенергетичного опромінювання носія, з подальшим введенням інсуліну до його концентрації за білком 1-10мг/мл та при співвідношенні поліетиленоксид: інсулін, дорівнюючому (1-500):1, та перемішуванням до одержання прозорого або злегка опалесцювального розчину [RU 2316339, 10.02.2008].

Проте одержаний препарат не має властивості регульованого вивільнення активної речовини.

Відомий також спосіб виготовлення мікрочасток для уповільненого вивільнення речовини, у якому склад, що містить активну речовину, диспергують в органічному розчині полімеру, а одержану суміш додають у зовнішню фазу у вигляді водного розчину або масляної фази, після чого видаляють розчинник під тиском або у потоці інертного газу. При цьому склад з активною речовиною може містити хітозан із ступенем деацильовання 25-100% та молекулярною вагою 10000-2000000Да, розчинений в оцтовій кислоті. В результаті здійснення способу можуть бути одержані кулясті мікрочастки з діаметром 1-500мкм [RU 2291686, 20.01.2007].

Відомий спосіб, згідно з яким обирають похідне хітозану з урахуванням типу та числа його заряджених груп, обирають також форму діючої речовини, таким чином, щоб при певному рівні рН забезпечувалося вирівнювання зарядів діючої речовини та носія у препараті. З обраного похідного хітозану одержують водний золь, що містить діючу речовину, потім регулюють рН водного золю до досягнення ізоїонного стану з можливим осадженням колоїдних часток або наночасток діючої речовини і одержаний водний золь піддають сушінню [RU 2256440, 10.10.2003].

Незважаючи на те, що список активних речовин, придатних для вказаних вище способів, включає інсулін, умови, за яких можливе одержання препарату із уповільненим вивільненням інсуліну для перорального використання, у патентах не розкриті. Відомі

способи указують лише на можливість одержання наночасток діючої речовини на хітозановому носії.

Найближчим до способу, що заявляється, є спосіб одержання фармацевтичної композиції, що містить інсулін на полісахаридному носії, який включає змішування вихідних інгредієнтів, за які беруть суспензію хітозану у фосфатному буферному розчині з рН 7,3-7,4 або з рН=4 і натрієвий інсулін у фосфатному буферному розчині з рН 7,3-7,4 або з рН=4, розчини змішують в об'ємному співвідношенні 1:1 та вводять соляну кислоту до утворення розчинного комплексу інсуліну з хітозаном з рН 3,6-4,4. Запропонований засіб призначений для назального застосування, або як вакцина [US 5554388, 10.09.1996].

Недоліком відомого способу є відсутність стабільності, що приводить до одержання композиції з великою відмінністю властивостей. Спосіб не придатний також для одержання лікарської форми для перорального використання, що характеризується регульованим вивільненням інсуліну.

Препарати, що вводяться перорально, проходять через стравохід, шлунок і кишечник (органи, які мають різну кислотність середовища та різні ферменти), що ускладнює розробку ефективних засобів для перорального приймання. Інсулін при пероральному введенні розщеплюється на амінокислоти і малі пептиди, які швидко розкладаються в епітелії тонкої кишки амінопептидазою, що ослабляє дію препарату та знижує ефективність регульованого вивільнення.

Задачею даної корисної моделі є розробка способу одержання фармацевтичної композиції, що містить інсулін на носієві, яка характеризується стабільністю властивостей.

Поставлена задача вирішується заявленим способом одержання фармацевтичної композиції, що містить інсулін на полісахаридному носії, який включає змішування вихідних інгредієнтів, за які беруть позитивно заряджений золь хітозану з рН, дорівнюючим 3,5-4,5, і негативно заряджений інсулін, що не містить цинку, у вигляді колоїдного розчину або у вигляді нанорозмірних кристалічних часток, доводять рН змішаного золю до 5,5-6,5, проводять гелювання та зневоднення гелю з одержанням твердих часток розміром 10-100мкм.

Переважно, гелювання здійснюють за присутності альгінату натрію у змішаному золі в кількості, що не перевищує 5% мас, з розрахунку на суху речовину.

Передбачено, що змішування вихідних інгредієнтів здійснюють з розрахунку масового відношення інсуліну до хітозану у змішаному золі, дорівнюючого (0,2-0,8):1, при забезпеченні електронейтральності змішаного золю.

Переважно, на змішування подають позитивно заряджений золь хітозану в ацетатному буферному розчині з розміром часток хітозану 200-400нм.

Переважно, на змішування подають позитивно заряджений золь хітозану у вигляді

його хлоргидрату, що має молекулярну масу 80-120kDa та ступінь деацетилювання 85-89%.

На змішування подають інсулін у вигляді кристалічних часток з розміром 800-1200nm або колоїдний розчин інсуліну у фосфатному буфері з pH 8,0-9,0.

У кращому варіанті на змішування подають хроматографічно очищений генно-інженерний інсулін, одержаний з використанням Штаму *ESCHERICHIA COLI XLI-BLUE/PINSR* як Продуцент ПРЕПРОІНСУЛІНУ.

Запропоновані нами параметри способу одержання встановлені експериментально. Суттєві ознаки способу, введені у незалежний пункт формули, є необхідними для забезпечення стійкості золю носія-хітозану, одержання стабільного змішаного нанозолю з високим ступенем однорідності та можливістю його гелювання до одержання стабільного, здатного до перетворення на наночастки, високо структурованого ксерогелю без втрати активності діючої речовини. З одержаних часток ксерогелю можна формувати лікарські форми за допомогою відомих методів, як у вигляді таблеток та пілюль, так і у вигляді капсул.

Нижче наведені конкретні приклади здійснення.

Приклад 1.

Для одержання позитивно зарядженого золю хітозану використовують частки хлоргидрату хітозану, деацетилюваного до ступеня 87%, що мають молекулярну масу 100kDa, середній розмір часток 300nm, дзета-потенціал +50mV.

Обрані частки хітозану інтенсивно перемішують з ацетатним буферним розчином з pH=4,0, приготовленим на бідистильованій воді, із забезпеченням мольного відношення іонів водню (H⁺) до глюкозамінних ланок хітозану (GLCN), дорівнюючого (0,5-1):1. Кількість позитивно заряджених центрів на поверхні хітозану (густина позитивного заряду) залежить від ступеня протонування аміногруп хітозану. Дзета-потенціал часток золю склав +50mV.

Na-інсулін одержаний з використанням Штаму *ESCHERICHIA COLI XLI-BLUE/PINSR* як Продуцента ПРЕПРОІНСУЛІНУ відповідно до патенту RU 2148642, 2000 та патенту UA 24452, 2003.

50мл приготовленого позитивно зарядженого золю хітозану з концентрацією 10мг/мл змішують з 50мл колоїдного розчину Na-інсуліну, що має негативний заряд і суспендований у фосфатному буферному розчині з pH=9,0, при концентрації інсуліну 5мг/мл, тобто при масовому відношенні інсулін: хітозан, дорівнюючому 0,5:1. Доводять pH змішаного золю до 6,0 і витримують протягом 10 хвилин до одержання стійкого електронейтрального гелю.

Одержаний гель піддають зневодненню шляхом сушіння сублімації з одержанням ксерогелю із розміром часток від 10 до 50мкм.

В результаті одержана фармацевтична композиція: інсуліно-хітозановий комплекс при вмісті інсуліну 190IU/ml, що має ефект уповільненого вивільнення і рекомендований для перорального використання.

Приклад 2.

Спосіб здійснений з використанням позитивно зарядженого золю ацетату хітозану із ступенем деацетилювання 85%, що має середній розмір часток 400nm, молекулярну масу 80kDa, які дисперговані в ацетатному буфері з pH 3,5. Негативно заряджені кристалічні частки людського біосинтетичного інсуліну з розміром 800-1200nm вводять у золь хітозану при інтенсивному перемішуванні та масовому відношенні інсуліну до хітозану, дорівнюючому 0,2:1, додають альгінат натрію у кількості 5% мас, додають луг до pH 5,5 і продовжують перемішування протягом 3 хвилин. Одержаний електронейтральний гель піддають розпилювальному сушінню і одержують тверді частки інсуліно-хітозанового комплексу з розміром 50-100мкм.

Приклад 3.

Спосіб здійснений так само, як і у прикладі 1, з використанням позитивно зарядженого золю глутамату хітозану із ступенем деацетилювання 89%, що має середній розмір часток 200nm, молекулярну масу 120kDa, які дисперговані в ацетатному буфері з pH 4,5. Дзета-потенціал часток золю склав +35mV. На змішування із зольом поданий колоїдний розчин свинячого інсуліну у фосфатному буфері з pH 9,0, при масовому відношенні інсулін: хітозан, дорівнюючому 0,8:1. Після встановлення pH змішаного золю 6,5 і витримки системи до одержання електронейтрального стійкого гелю продукт подрібнюють на кульовому млині і висушують. Одержано інсуліно-хітозановий комплекс при вмісті інсуліну 220 IU/ml, з розміром часток 10-100мкм, що має ефект уповільненого вивільнення.

Одержана фармацевтична композиція перевірена на мишах.

Моніторинг кінетики вивільнення інсуліну з одержаної фармацевтичної композиції проведений за допомогою вискоэффективної рідинної хроматографії з оберненою фазою та градієнтним елюванням. Дані щодо безперервного вивільнення інсуліну подані на Фіг. у вигляді графічної залежності кількості інсуліну від часу.

Аналіз результатів показав, що заявлений спосіб дозволяє одержати інсулін-хітозановий комплекс, який проявляє високу ефективність. Одержаний засіб уповільненого вивільнення для перорального введення показав добре регульоване вивільнення інсуліну протягом 7-8 діб.

