



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(11) 978715

(61) Дополнительный к патенту ...

(22) Заявлено 16.05.79 (21) 2772851/28-13

(23) Приоритет — (32) 17.05.78

(31) 20175/78 (33) Великобритания

Опубликовано 30.11.82. Бюллетень № 44

Дата опубликования описания 30.11.82

(51) М. Кл.³

A 61 K 31/557

(53) УДК 616.151.
.5(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Иностранцы
Ян Сеймур Воттс и Питер Хью Марсден
(Великобритания)

(71) Заявитель

Иностранная фирма
"Дзе Велкам Фаундейшн Лимитед"
(Великобритания)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДНОГО РАСТВОРА ПРОСТАЦИКЛИНА ИЛИ ЕГО СОЛИ

ИДЖК

1

2

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности и касается получения лекарственных препаратов.

Известен способ получения водного раствора простациклина или его соли смешением с фармацевтически приемлемым буфером [1].

Однако известный способ не позволяет получить стабильный целевой продукт.

Цель изобретения - повышение стабильности целевого продукта.

Указанная цель достигается согласно способу получения водного раствора простациклина или его соли смешением с фармацевтически приемлемым буфером, при котором в качестве буфера используют несеросодержащую α -аминокислоту с концентрацией аминокислоты 0,02-0,03 М и pH композиции 9,0-11,6.

Аминокислота, используемая в качестве буфера, должна быть свободна от серы, наиболее предпочтителен гли-

цин, но могут быть использованы и другие аминокислоты, такие как валин, аланин и аргинин.

Общая концентрация аминокислоты должна быть более низкой - 0,02-0,03 М, предпочтительно 0,025 М. Аминокислота должна быть достаточно растворимой, чтобы обеспечить необходимую буферную емкость.

В растворе буфера может присутствовать хлористый натрий, но количество его не должно быть таким, чтобы раствор становился фармацевтически неприемлемым. Молярная концентрация хлористого натрия должна быть такая же, как и концентрация аминокислоты. Большое количество хлористого натрия увеличивает ионную силу раствора, связанного активного соединения и буфера, что нежелательно для стабильности соединения, в буфере может присутствовать и хлористый калий.

pH буфера должно находиться в диапазоне 10,2-11,6, предпочтительно 10,5.

Способ осуществляют следующим образом.

Готовят раствор глицина в воде, содержащий некоторое количество хлористого натрия. К этому раствору добавляют сначала гидроокись натрия в качестве основания для того, чтобы увеличить pH до необходимого уровня, и затем простациклин.

В качестве основания можно использовать любое основание, которое является достаточно сильным, чтобы получить буферный раствор с необходимым pH. Основание должно быть таким, чтобы оно приводило к получению фармацевтически приемлемого раствора, т. е. раствора, который не вреден реципиенту. Количество используемой аминокислоты, например глицина, и основания, например гидроокиси натрия, должно быть минимально необходимым для стабилизации активного соединения в течение необходимого времени. Использование избытка аминокислоты или основания, или обоих этих компонентов приводит к удержанию воды в продукте высушивания при замораживании, которая вызывает разрушение активного соединения. В определении фармацевтической приемлемости важным фактором является pH раствора. Если раствор простациклина должен быть введен в прибор, например искусственную почку, то pH может иметь значение до 12 и даже более, но если раствор должен быть введен в большом объеме в вену, например в сердечно-легочную искусственную систему, то pH при выходе в вену должна составлять преимущественно 8,4-9,0, для этого pH раствора может быть понижена непосредственно перед использованием.

Другие агенты могут присутствовать в буферном растворе, но их количество не должно значительно уменьшать стабильность активного соединения в растворе. Например, могут присутствовать некоторые карбонаты, сопутствующие простациклину, например натрий-простациклин может содержать до 5 вес.% карбоната натрия.

Когда активное соединение является очень активным фармакологически, то необходимое количество его очень мало; например только несколько мил-

лиграмм требуется для часового вливания в пациента весом 70 кг. Количество активного соединения, присутствующего в данном буферном растворе перед высушиванием при замораживании, зависит от применения этого материала после восстановления. Восстановление можно делать буферным раствором, свободным от активного соединения, так что отношение активного соединения к буферным составным частям может быть больше, чем в используемом растворе для введения.

Если раствор, содержащий только буферные агенты, активное соединение и хлористый натрий, высушивают замораживанием, то физическая прочность и внешний вид полученного высушенного при замораживании образца не особенно удовлетворительны. Поэтому перед высушиванием предпочтительно включать в буферный раствор индифферентную составную часть лекарства. Предпочтительный индифферентный компонент лекарства - маннитол, концентрация которого 25-50 мг/мл буферного раствора. Если используют менее чем 25 мг/мл маннитола, то прочность и внешний вид препарата недостаточно хороши. Если используют более 50 мг/мл, то улучшение незначительно или совсем не наблюдается и стабильность активного соединения низкая. Индифферентная составная часть обеспечивает в образце, высушенном замораживанием, поддерживающую матрицу и улучшает физическую прочность и внешний вид образца. Не все индифферентные составные части могут быть использованы, например, следует избегать тех веществ, которые проявляют избыточное пенообразование восстановленного материала, например поливинилпирролидон. Также не могут быть использованы вещества влияющие на pH буферного раствора, например, глицин.

Буферный раствор может содержать кроме активного соединения, другие терапевтические компоненты. Высушенный замораживанием продукт также может содержать другие терапевтические вещества или эти вещества могут быть добавлены к восстановленному буферному раствору. Такие терапевтические вещества могут частично или полностью заменить индифферентные составные части лекарства.

Растворителем, используемым для приготовления буферного раствора,

является предпочтительно вода для инъекций (Eugareun pharماسoreice) или другая вода, пригодная для использования во вливаниях или инъекциях. Когда высушенное замораживанием вещество восстанавливают для использования, оно может быть вновь растворено в воде для инъекций, имеющей pH 5,5-7, предпочтительно 7, или в аминокислотном буферном растворе, имеющем pH 9, предпочтительно 10,5, или некоторое количество буферного раствора может быть добавлено к раствору в воде для инъекций. Восстановление высушенного замораживанием материала можно также проводить с помощью растворения его в физиологическом растворе, пригодном для вливания. Для этой цели используют глюкозу.

Высушивание замораживанием буферного раствора может быть выполнено любым известным способом, причем содержание воды должно быть пониженным, поскольку это необходимо для последующей стабильности активного соединения.

Количество простациклина, требуемое для терапевтического эффекта, зависит от способа введения. Доза для млекопитающих находится в диапазоне 0,01-200 мг на 1 кг живого веса, лучше 0,01-10 мг на 1 кг живого веса, предпочтительно 0,2-0,5 мг/кг.

Количество простациклина, присутствующего в ампуле для введения вливанием, находится в диапазоне 0,1-1,5 мг/кг, предпочтительно 0,5-1,0 мг/кг. Активное соединение, ког-

да его применяют к человеку, может быть в несколько раз более сильное действующим, чем для других млекопитающих.

Для человека и ветеринарного использования отбирают по крайней мере из двух сосудов (например, в виде многокомпонентной упаковки), один из которых является пузырьком или ампулой и содержит высушенный замораживанием образец (лиофилизированный) из активного соединения с буфером, а другой - пузырьком или ампулой, и содержит дополнительное количество буфера в водном растворе или высушенного замораживанием, который не содержит активного соединения. Высушенный замораживанием продукт может быть далее восстановлен водным раствором буфера или раствором из второго сосуда. Восстановленный материал может быть в последующем разбавлен, чтобы обеспечить целевую дозу непосредственно перед введением. Таким образом, высушенный препарат, например 0,5 мг простациклина при pH 11,5, может быть разбавлен 50 или 500 мл водного раствора декстрозы или солевого раствора, имеющего pH такое, чтобы получить раствор с pH 10,0-10,5.

Пример 1. Стерильные растворы, содержащие простациклин (0,2 и 0,4 мг/мл) и маннитол (50 мг/мл), готовят в следующих буферах: глицине, аргинине, валине, аланине, карбонате и трис-буфере. Концентрации буферных компонентов составляют:

Аминокислотный буфер: 0,025 М аминокислоты, 0,25 хлористого натрия и гидроокись натрия при pH 10,5;

Карбонатный буфер: 448 мг/л бикарбоната натрия и 1614 мг/л карбоната натрия;

Трис-буфер: 6054 мг/л трис-основания и 2,5 мл 0,1 гидроокиси натрия на литр.

Порции на 5 мл каждого из этих растворов затем высушивают замораживанием при -40°C под вакуумом и проводят первую стадию сушки при 0°C и вторую при 20°C. Запечатывание пузырьков проводят в атмосфере азота. Далее высушенные продукты подвергают испытанию на хранение. После испытания анализируют на содержание простациклина методом жидкостной хроматографии. Хроматографию осуществляют на высушенных препаратах, восстановленных в 10 мл 0,025%-ного раствора гидроксид-тетраметиламмония.

Параметры колонки 25 см x 4,2 мм. Колонку набивают с использованием метода Webber'a и Mekerrbl'a, в качестве жидкой среды применяют четыреххлористый углерод.

Фазу колонки приготавливают следующим образом.

10 г набивки высушивают под вакуумом при 80°C в течение двух с половиной часов во вращающейся испарительной колбе емкостью 250 мл. Добавляют 10 мл октадецилтрихлорсилана и 100 мл сухого толуола и раствор кипятят с обратным холодильником в течение трех

часов с перемешиванием лопастной мешалкой и применением обратного холодильника, снабженного предохранительной трубкой с хлористым кальцием. Смесь охлаждают и затем отфильтровывают через фильтр 0,5 мкм. Окись кремния на фильтре промывают 250 мл горячего ацетона и сушат при 80°C в вакууме в течение двух часов. Продукт (11 г) обрабатывают триметилхлорсиланом (10 мл) как указано выше, кипячение с обратным холодильником в течение 45 мин приводит к образованию целевого продукта.

В качестве подвижной фазы используют воду (1200 мл), в которой растворяют 5 г борной кислоты и 7,6 г бинарий тетрабората и затем добавляют метанол (8800 мл). Температура колонки комнатная (около 25-30°C), поток подвижной фазы составляет 3,6 мл/мин при давлении 20 МПа. Детектирование продуктов выполняют с использованием Pye Unicam L13 при длине волны 205 нм с полной шкалой в 0,16 абсорбционных единиц для 0-100 мг/мл раствора.

Количество присутствующего простаглицина рассчитывают по измерениям высоты пика и сравнению с эталонным образцом известной концентрации.

Пример 2. Высушенная замораживанием инъекция простаглицина содержит следующие ингредиенты, мг:

Простаглицин	1000
Маннитол	50000
Хлористый натрий (0,025 М)	2932
Глицин (0,025 М)	3760
Гидроокись натрия	Количество, соответствующее pH 10,5

Аналогично примеру 1 1 мл инъекции простаглицина высушивают замораживанием с получением вещества, содержащего до 5 вес.% воды.

Пример 3. Перемешиваемый раствор простаглицина PLF₂-метил сложного эфира (50 мг) в эфире (1 мл) обрабатывают бикарбонатом натрия и затем по каплям в течение 2 ч добавляют водный раствор трийодида калия. После перемешивания в течение ночи реакционную смесь встряхивают с эфиром и водным раствором тиосульфата натрия. Эфирную фазу отделяют, промывают водой, сушат над сульфатом магния и выпаривают до получения желтой смолы 5-эпи-9-деокси-6,9-эпоксипростаглицина F₁₂ метил сложного эфира.

Раствор 5-эпи-9-деокси-6,9-эпоксипростаглицина F₁₂ метилового сложного эфира в метанольном растворе метоксида натрия, полученного из натрия и сухого метанола, оставляют в атмосфере сухого азота в течение 5 ч и затем растворитель отгоняют в высоком вакууме. Оставшееся твердое аморфное вещество промывают бензолом, оставляют в атмосфере воздуха на ночь и затем перемешивают с водным раствором гидроокиси натрия с получением суспензии тонких бесцветных игл. Кристаллы отбирают, промывают несколькими каплями водного раствора гидроокиси натрия и сушат на воздухе с получением натриевой соли 9-деокси-6,9-эпоксипростаглицина F₁₂. Ингибирование арахидоновой кислоты, индуцированной агрегацией тромбоцитов человека при концентрации 0,2 нг/мл этой солью, и ее неустойчивость при pH кислой среды вместе с последующим доказательством, позволяющим заключить, что она совместна с конфигурацией (5Z)-5,5-дидегидро-9-деокси-6,9-эпоксипростаглицин F₁₂.

¹³C ЯМР спектры высокого разрешения раствора кристаллов в диметилсульфоксиде-d₆ показали соответствующие 20 радикалов, химические сдвиги которых полностью соответствуют химической структуре, установленной для простаглицина. Пиков примеси не обнаружено.

Пример 4. 5-эпи-9-деокси-6,9-эпоксипростаглицин F₁₂ метиловый сложный эфир перемешивают с метанольным раствором метоксида натрия, приготовленного из натрия в атмосфере азота при комнатной температуре в течение ночи; 1 н. водный раствор гидроокиси натрия добавляют к желтому реакционному раствору для гидролиза эфирной части и после 2 ч метанол испаряют под вакуумом при комнатной температуре. В остаточном водном растворе спонтанно кристаллизуются бесцветные тонкие иглы натриевой соли, которую охлаждают (до 0°C) отбирают, промывают осторожно 1 н. водным раствором гидроокиси натрия, сушат на воздухе и хранят в закрытой трубке. Эта соль имеет ν_{max} (KBr диск) см⁻¹ 1692 (O=C=O) и двадцать резонансов ¹³C наблюдают при 182,7

и 182,7

(C-1); 158,2 (C-6); 140,0 и 134,3 (C-13,14); 100,7 (C-5); 87,5 (C-15); 80,6 и 75,5 (C-9,11); 58,0 (C-12); 49,0, 45,8, 42,4, 41,9, 37,5, 35,8 (C-18); 31,6, 29,9, 29,3, 26,7 (C-19); 18,4 (C-20) ч./млн. из TMS в диметилсульфоксиде-d₆. Продуктом является натрий (5Z)-5,6-дидегидро-9-деокси-6,9α-эпокси простагландин F_{1α} (синтетический натрий простагландин).

Пример 5. 5β-иодо-9-деокси-6β,9α-эпокси простагландин F_{1α} метиловый сложный эфир обрабатывают 1,5-дiazобидцкло-5-ноненом (ДБН) при комнатной температуре в отсутствие растворителя в течение нескольких часов. ДБН и иодистый водород удаляют путем адсорбции на колонке с окисью кремния. ИК-спектроскопия - (тонкая планка), ν_{max} 1738 (CO₂Me) и 1696 см⁻¹ (-O-C=O), ЯМР-спектроскопия ¹H в C₆D₆ - Et₃N, 19:1 - (4,22 триплет триплетов 12, J 6,9 и 1,0 Гц (C-5 виниловый протон); и ЯМР-спектроскопия ¹³C в C₆D₆ - Et₃N, 19:1 - (отличительными характеристиками были резонансы при 159,8 (C-1); 155,8 (C-1); 155,8 (C-6); 137,2 и 130,6 (C-13,14); 95,3 (C-5); 84,1 (C-15); 77,3 и 72,2 (C-9,11) и 51,1 (Me сложный эфир) ч./млн. из TMS).

Виниловый эфир (5')-5,6-дидегидро-9-деокси-6,9α-эпокси простагландин метиловый сложный эфир гидролизуют водным раствором гидроокиси натрия с получением синтетического натрий простагландин.

Пример 6. (5P, 6P)-5-иодо-PLJ метиловый эфир (13,375 г, содержащий SA (2% 5 S, 6 S-изомера) готовят в виде раствора в метанольном растворе метоксида натрия (из натрия и метанола при комнатной температуре в атмосфере азота и ставят при комнатной температуре на ночь. Получающийся желтый раствор обрабатывают 1 н. водным раствором

гидроокиси натрия, отфильтровывают от осадка, оставляют при комнатной температуре в течение 2 ч и отгоняют метанол на испарителе Buchi в вакууме при комнатной температуре. Остаточный сироп обрабатывают водой и 1 н. водным раствором гидроокиси натрия, причем имеет место спонтанная кристаллизация с получением массы кристаллов. После охлаждения до 0°C твердое вещество отбирают, промывают 1 н. раствором гидроокиси натрия со льдом до тех пор, пока промывные воды не станут бесцветными, и сушат на воздухе до постоянного веса (2 дня), получая 10,15 г, T_{пл.} = 164-166°C (последующая сушка при 100°C бесцветной натриевой соли простагландин).

Пример 7. Стерильный разбавитель для инъекции простагландин:

Глицин (0,025 M)	94,0 мг
Хлористый натрий (0,025 M)	73,3 мг
Гидроокись натрия	До pH 10,5
Вода для инъекции	До 50 мл

Аналогично примеру 1 указанные ингредиенты используют в растворе в качестве разбавителя.

Предлагаемый способ позволяет повысить стабильность целевого продукта.

Формула изобретения

35 Способ получения водного раствора простагландин или его соли смешением с фармацевтически приемлемым буфером, отличающийся тем, что, с целью повышения стабильности целевого продукта, в качестве буфера используют несеросодержащую α-аминокислоту с концентрацией аминокислоты 0,02-0,03 M и pH композиции 9,0-11,6.

40 Источники информации, принятые во внимание при экспертизе
1. Простагландин. Под ред. И.С. Ажгихина. М., 1976, с. 13 и далее.

Составитель С. Малютина

Редактор А. Лежнина Техред Е. Харитончик Корректор С. Шекмар

Заказ 9248/78

Тираж 714

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4

