



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57140 (13) C2

(51) 7 A61K31/715,31/295,47/48,C08B37/00

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

(54) СПОЛУКА ЗАЛІЗО-ДЕКСТРАН, СПОСІБ ЇЇ ОДЕРЖАННЯ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, СПОСІБ ЇЇ ОДЕРЖАННЯ

1

(21) 2000116538  
(22) 29 07 1999  
(24) 16 06 2003  
(86) PCT/DK99/00425, 29 07 1999  
(31) PA 1998 01526  
(32) 20 11 1998  
(33) DK  
(46) 16 06 2003, Бюл. № 6, 2003 р.  
(72) Андреасен Ганс Берг, DK, Крістенсен Ларс, DK  
(73) ФАРМАКОСМОС ХОЛДІНГ А/С, DK  
(56) US 4370476, A, 25 01 1983  
WO 9717377, A, 15 05 1997  
EP 0150085, A, 31 07 1985  
EP 0634174, A, 18 01 1995  
(57) 1 Спосіб одержання сполуки залізо-декстран, у якому молекулярну масу декстрану знижують шляхом гідролізу, і його функціональні альдегідні термінальні групи перетворюють на спиртові групи шляхом гідрогенізації, вищезгаданий декстран у вигляді водного розчину комбінують з принаймні однією розчинною у воді сіллю заліза, до отриманого в результаті розчину додають основу для утворення гідроксиду заліза і отриману в результаті суміш нагрівають з перетворенням гідроксиду заліза на оксигідроксид заліза як асоційовану сполуку з декстраном, який відрізняється тим, що гідрогенізацію здійснюють лише частково, причому залишається не більше 15% за масою відновлювального цукру, що розраховують на основі загальної кількості вуглеводів, і вищезгаданий декстран до комбінування з сіллю заліза і після піддання гідрогенізації піддають окисненню з отриманням декстрану, у якому практично всі альдегідні групи перетворюються на спиртові та карбоксильні групи  
2 Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що декстран до комбінування з принаймні однією сіллю заліза має середню вагову молекулярну масу меншу ніж 7000 Да  
3 Спосіб за п. 1 або 2, який відрізняється тим, що після гідролізу, але до комбінування з розчином у воді сіллю заліза, декстран очищують одним або кількома способами мембранного відокремлення з показником пропускання, придатним для утримання молекул декстрану з молекулярною масою понад 2700 Да, з можливим подальшим

2

гідролізом і одним або кількома способами мембранного відокремлення з показником пропускання від 340 до 800 Да для видалення менших молекул  
4 Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який відрізняється тим, що молекули декстрану після окиснення мають вміст відновлювального цукру не більше 4% за масою  
5 Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який відрізняється тим, що гідрогенізацію здійснюють за допомогою боргдриду натрію у водному розчині  
6 Спосіб за будь-яким з пп. 1-5, який відрізняється тим, що окиснення здійснюють за допомогою піпохлориту, в оптимальному варіанті - піпохлориту натрію в основному водному розчині  
7 Спосіб за будь-яким з попередніх пп. 1-6, який відрізняється тим, що одержують водний розчин, що містить гідрогенізований та окиснений декстран і принаймні одну розчинну у воді сіль заліза, доводять рН вищезгаданого водного розчину до показника більше 10 шляхом додавання основи, нагрівають суміш до температури понад 100°C, доки вона не перетвориться на чорний або темно-бурий колоїдний розчин, який піддають фільтруванню крізь 0,45 мкм фільтр, очищують та стабілізують розчин, застосовуючи фільтрування, нагрівання та мембранне відокремлення і додавання одного або кількох стабілізаторів і, необов'язково, висушують розчин з отриманням потрібної сполуки залізо-декстран у вигляді стабільного порошку  
8 Спосіб за п. 7, який відрізняється тим, що стабілізацію здійснюють додаванням принаймні однієї солі органічної оксикислоти, в оптимальному варіанті - вибраної з групи, що включає цитрати та глюконати  
9 Сполука залізо-декстран, одержана за пп. 1-8, яка відрізняється тим, що її видимий пік молекулярної маси (M<sub>p</sub>) становить 50000-150000 Да, краще 70000-30000, найкраще 80000-120000 Да, і вміст заліза становить 15 - 45% за масою  
10 Сполука залізо-декстран за п. 9, яка відрізняється тим, що вказана сполука придатна для одержання терапевтичної композиції для профілактики або лікування недостатності заліза шляхом парентерального введення  
11 Спосіб одержання декстранової композиції, у якому молекулярну масу декстрану знижують

(13) C2  
(11) 57140  
(19) UA

шляхом гідролізу і його функціональні альдегідні термінальні групи перетворюються на спиртові групи шляхом гідрогенізації, який відрізняється тим, що гідрогенізацію здійснюють лише частковою, причому залишається не більше 15% за масою відновлювального цукру, що розраховують на основі загальної кількості вуглеводів, і вищезгаданий декстран до комбінування з сіллю заліза і після піддання гідрогенізації піддають окисненню з отриманням декстрану, у якому практично всі альдегідні групи перетворюються на спиртові та карбоксильні групи

12 Декстранова композиція, яка відрізняється тим, що її одержують способом за п 11

13 Декстранова композиція за п 12, яка відрізняється тим, що придатна для одержання сполуки

залізо-декстран

14 Декстранова композиція за п 12, яка відрізняється тим, що вона одержана способом за п 11

15 Фармацевтична композиція для профілактики або лікування недостатності заліза шляхом парентерального введення, що включає сполуку залізо-декстран, воду та при необхідності стабілізатор, яка відрізняється тим, що як сполуку залізо-декстран вона містить терапевтично ефективну кількість сполуки за п 9

16 Фармацевтична композиція за п 15, яка відрізняється тим, що як стабілізатор включає сіль органічної оксикислоти, в оптимальному варіанті - вибрану з групи, що включає цитрати та глюконати

Викликана браком заліза анемія описується як одна з найпоширеніших, а можливо, і найпоширеніша патологія серед людей, якщо розглядати її у глобальному масштабі. У сучасному свинарстві та розведенні інших домашніх тварин викликана браком заліза анемія також становить проблему, якщо не було вжито належних профілактичних заходів.

Хоча викликаний браком заліза анемію можна запобігти або випікувати її шляхом перорального введення залізовмісних композицій, у багатьох випадках віддають перевагу залізовмісним композиціям для парентерального введення з метою уникнення нерівномірності біонакопичування, яка трапляється при пероральному введенні, та забезпечення ефективного введення.

Таким чином, залізовмісні композиції для парентерального застосування, тобто, підшкірного, внутрішньом'язового або внутрішньовенного введення, вже багато років перебувають у розпорядженні ветеринарів та лікарів.

Як компоненти у композиціях для парентеральних ін'єкцій від викликаної браком заліза анемії, вживалися або пропонувалися різні залізовмісні речовини, такі, як сахаратний оксид заліза. Однак найбільш вживаними композиціями з прийнятих на сьогоднішній день є такі, що включають комбінований продукт оксигідроксиду заліза (або гідроксиду заліза), зв'язаний з декстраном, оскільки такі композиції є менш токсичними, ніж, наприклад, сахарати заліза. Декстран є полімерним вуглеводом, утвореним мікроорганізмами *Leuconostoc mesenteroides*.

Залізовмісна композиція для парентеральної ін'єкції має задовольняти кільком вимогам, включаючи доступність заліза для синтезу гемоглобіну, відсутність місцевих або загальних побічних ефектів та стійкість при зберіганні, що дозволяє досягати задовільного терміну зберігання при температурі навколишнього середовища.

Залізо-декстранові композиції для лікування анемії продаються вже кілька десятиліть, і будь-які зміни у способі виробництва та виборі вихідних матеріалів пропонувалися з метою поліпшення стійкості цих композицій та зниження кількості побічних ефектів при їх введенні.

Як приклади патентів, що стосуються цих проблем, можна навести такі:

У патенті US 2,885,393 (1959) описано основний спосіб одержання комплексу залізо-декстран, у якому середня молекулярна маса декстрану становить від 30000 до 80000 Дальтонів (Да) або менше. Придатність цих комплексів для лікування людей з опису даного патенту не виявляється.

Патент US Re 24,642 (1959), на який нами робиться посилання, включає детальне пояснення вимог до розчину заліза, призначеного для внутрішньом'язової ін'єкції. Патент стосується практично неіонного комплексу гідроксиду заліза з декстраном, що має середню характеристичну в'язкість при 25°C від приблизно 0,025 до приблизно 0,25, а також спосіб одержання такого комплексу шляхом контактування вищеописаного декстрану з гідроксидом заліза, утвореним *in situ* шляхом реакції між сіллю заліза та лужною основою. При цьому не давалося ніякої інформації щодо потрібної молекулярної маси декстрану і не вказувалося на жодну модифікацію декстрану, крім часткової деполімеризації.

Патент US 3,093,545 (1963). У цьому патенті описано деякі деталі, такі, як температура та значення pH в удосконаленому способі одержання продукту, який, очевидно, є дуже схожим на одержаний згідно з останнім згаданим вище патентом.

У GB 1,200,902 (1970) вказано, що, на відміну від одержання гідроксиду заліза *in situ*, більш вигідним є попереднє формування гідроксиду заліза за регульованих умов, оскільки такий гідроксид заліза легко утворює комплекси з декстранами. Вказується, що не лише частково деполімеризований декстран, що має вагову середню молекулярну масу, наприклад, у межах 500-50000 Да, в оптимальному варіанті - у межах 1000-10000 Да, але, як теоретично можливі, враховують також модифіковані форми або похідні декстрану, такі, як гідрогенізовані декстрини, або окиснені декстрини, або очищені лугом декстрини. Однак єдиними конкретними згаданими декстранами є окиснені декстрини, що мають середню молекулярну масу відповідно 3000 та 5000 Да. Гідроксид заліза попередньо підготовляють до контакту з декстра-

ном Це означає, що отриманий в результаті продукт складається з оксидгидроксида заліза, на якому декстран утворює покриття на відміну від більш гомогенних продуктів, утворених шляхом осадження гідроксиду заліза *in situ*, тобто, у присутності декстрану

Патент DK 117,730 (1970) стосується способу, згідно з яким гідрогенізований декстран, що має молекулярну масу від 2000 до 10000Да, приводять у реакцію з гідроксидом заліза у водному середовищі Середня молекулярна маса декстрану, застосованого у прикладах втілення, не вказується Однак вказано характеристичну в'язкість, яка становить приблизно 0,05, що може відповідати середній молекулярній масі приблизно 5000Да

У DK 122,398 (1972) також описано застосування гідрогенізованого декстрану для одержання комплексних сполук з гідроксидом заліза і пояснюється, що токсичність є значно нижчою, ніж при застосуванні негідрогенізованого декстрану Предметом патенту є спосіб, згідно з яким мокрий гідроксид заліза змішують з сухим гідрогенізованим декстраном і після необов'язкового додавання лимонної кислоти або цитрату суміш нагрівають і очищують

В US 3,697,502 (1972) описано спосіб одержання залізо-декстранової композиції, згідно з яким лимонну кислоту додають до декстрану і одночасно здійснюють додавання розчину гідроксиду лужного металу та розчину хлориду заліза Середня молекулярна маса декстрану становить від 3000 до 20000Да Декстран, застосований у прикладах втілення, має молекулярну масу відповідно 7000 та 10000Да

DK 129,353 (1974) стосується аналогічного способу одержання похідної сполуки гідроксид заліза-декстран при середній молекулярній масі декстрану не більше 50000Да, причому термінальні групи його полімерних ланцюгів було модифіковано для перетворення термінального відновлювального ангідроглікозного елемента на відповідну групу карбонової кислоти Хоча межі, визначені для молекулярної маси декстрану, є дуже широкими, тобто, від 500 до 50000Да, в оптимальному варіанті - від 1000 до 10000Да, єдиний наведений як приклад декстран має середню молекулярну масу 5000Да

DK 129,942 (1974) є схожим з останнім згаданим вище німецьким патентом і стосується одержання комплексів гідроксиду заліза з декстрангептоновою кислотою або декстрингептоновою кислотою Пептонові кислоти одержують шляхом гідролізації відповідних ціангідридів

Патенти US 4,827,945 (1989) та 5,102,652 (1992) обидва стосуються суперпарамагнетичних оксидів металів, таких, як оксиди заліза, вкриті або асоційовані з полімерними матеріалами, такими, як декстран Полімер контактує з сумішшю оксидів металів на двох різних етапах окиснення для утворення суперпарамагнетичного комбінованого продукту, який згодом окиснюють для перетворення всіх оксидів металів на найвищі з вищезгаданих ступенів окиснення Цей продукт є особливо корисним як контрастний агент при відображенні з застосуванням магнітного резонансу для медичної діагностики Однак згадується також, що його мо-

жна застосовувати для лікування викликаної браком заліза анемії Молекулярна маса полімерів, включаючи вуглеводи, такі, як декстран, в оптимальному варіанті становить від 5000 до 250000Да

Незважаючи на спроби поліпшення залізо-декстранових композицій для лікування анемії, як видно з вищенаведених патентів, композиції, одержані на даному рівні техніки, все ж мають деякі недоліки

Це є результатом того, що у деяких пацієнтів ці композиції можуть викликати затяжну надмірну чутливість, або важкі анафілактичні побічні ефекти, які в результаті можуть спричинити, наприклад, задишку, гіпотонію, шок та смерть Спостерігають також інші вияви токсичної реакції

Крім того, деякі композиції існуючого рівня техніки не можуть відповідати сучасним вимогам щодо стійкості Брак стійкості може виявити себе у гелеутворенні рідини або осадженні гідроксиду або оксигідроксиду заліза

До того ж, сприятлива для наявних у продажу залізо-декстранових композицій на синтез гемоглобіну у пацієнтів, що приймають вищезгадані композиції, виявляється досить пізно після введення, і відновлення потрібного рівня гемоглобіну часто відбувається повільніше, ніж це вимагається

У неопублікованій датській патентній заявці 420/98, яка розглядається одночасно з даною заявкою (і на яку нами робиться посилання), описано винахід за допомогою якого долаються певні вищезгадані недоліки В основі вищезгаданого винаходу лежить розуміння того, що багато з зазначених недоліків є пов'язаними з присутністю недостатньо гідрогенізованого декстрану відносно високої молекулярної маси у декстрані, застосованому як вихідний матеріал, а також з присутністю у ньому сахаридів низької молекулярної маси

Це розуміння застосовують для одержання, в тому числі за допомогою мембранної технології, сполуки залізо-декстран, яка відрізняється тим, що вона включає гідрогенізований декстран, що має вагову середню молекулярну масу ( $M_w$ ) від 700 до 1400Да, в оптимальному варіанті - приблизно 1000Да, числову середню молекулярну масу ( $M_n$ ) від 400 до 1400Да і тим, що 90% за масою декстрану мають молекулярну масу менше, ніж 2700Да, а  $M_w$  10% за масою фракції декстрану, що має найвищу молекулярну масу, є меншою за 3 200Да у стійкому зв'язку з оксидгидроксидами заліза

Хоча продукт вищезгаданої датської патентної заявки 420/98 і є значно поліпшеним стосовно зниження токсичної реакції та зниження тенденції до викликання надмірної чутливості або анафілактичних побічних ефектів, а також має поліпшену стійкість, все ж існує потреба у засобі регулювання середньої молекулярної маси кінцевої залізо-декстранової сполуки, а отже, доступності заліза для синтезу гемоглобіну в організмі, людини або тварин

Якщо сполуку залізо-декстран, що має вміст заліза, наприклад, 15-45% за масою, одержують з застосуванням декстрану, що має вагову середню молекулярну масу приблизно 1000Да, у якому практично всі відновлювальні альдегідні групи бу-

по гідрогенізовано до спиртових груп, видимий пік молекулярної маси ( $M_p$ ), як правило, становить приблизно 140000Да

Він має бути здатним на утворення залізо-декстранових сполук нижчої молекулярної маси та поліпшеної стійкості, особливо, для отримання сполук, у яких залізо є легко доступним для синтезу гемоглобіну в організмах людини або тварин

В основі даного винаходу лежить розуміння того, що стійку сполуку залізо-декстран відносно низької молекулярної маси можна одержати, якщо відновлювальні альдегідні групи гідролізованого декстрану перед реакцією з залізом лише частково гідрогенізувати у спирт. Молекулярна маса сполуки залізо-декстран, утвореної при такій попередній обробці декстрану, є значно нижчою за молекулярну масу сполуки залізо-декстран, одержаної з застосуванням подібного гідролізованого декстрану, попередньо обробленого лише шляхом гідрогенізації, можливо, повної. Шляхом регулювання співвідношення кількості відновлювальних груп, гідрогенізованих до кількості окиснених відновлювальних груп, можна впливати на середню молекулярну масу отриманої в результаті сполуки залізо-декстран. Однак, якщо пропорція окиснених груп у декстрані буде надто високою, сполука залізо-декстран матиме недостатню стійкість. Виявилося, що для отримання стійкого продукту кількість відновлювальних груп у декстрані до окиснення не повинна перевищувати обсягу, що відповідає 15% за масою

Таким чином, даний винахід стосується способу одержання стійкої сполуки залізо-декстран, що має відносно низьку молекулярну масу і вузький інтервал розподілу молекулярної маси, причому молекулярну масу декстрану знижують шляхом гідролізу, і його функціональні альдегідні термінальні групи перетворюють на спиртові групи шляхом гідрогенізації, гідрогенізований декстран як водний розчин комбінують з принаймні однією розчинною у воді сіллю заліза, до отриманого в результаті розчину додають основу для утворення гідроксиду заліза і отриману в результаті суміш нагрівають для перетворення гідроксиду заліза на оксигідроксид заліза як асоційовану сполуку з декстраном, причому гідрогенізація є лише частковою, з залишенням, однак, не більше 15% за масою відновлювального цукру, розрахованих на основі загальної кількості вуглеводів, і вищезгаданий декстран до комбінування з сіллю заліза і після піддання гідрогенізації піддають окисненню, вищезгадану гідрогенізацію та окиснення здійснюють для отримання декстрану, у якому практично всі альдегідні групи є перетвореними на спиртові та карбоксильні групи

Таким чином, гідрогенізацію здійснюють до окиснення як часткову гідрогенізацію, залишаючи частину альдегідних груп декстрану непрореагованими, а окиснення здійснюють згодом для отримання практично повного перетворення вищезгаданої частини альдегідних груп на групи карбонових кислот

Вважають, що через таку послідовність гідрогенізації та окиснення досягають вигідного розподілу отриманого в результаті спиртових груп та груп карбонових кислот, оскільки через здійснення

гідрогенізації як початкової операції спочатку відбувається утворююча спирт гідрогенізація в альдегідних групах, прикріплених до молекул декстрану відносно низької молекулярної маси, тоді як альдегідні групи на декстранах більш високої молекулярної маси спочатку реагують на етапі окиснення, що означає, що групи карбонових кислот, утворені шляхом окиснення, значною мірою вводяться у декстран більш високої молекулярної маси

Цей розподіл спиртових груп та груп карбонових кислот на фракції нижчої молекулярної маси та більш високої молекулярної маси, відповідно, має перевагу, оскільки можна очікувати, що стійкість отриманого в результаті продукту була б кращою, якби спиртові групи та групи карбонових кислот розподілялися випадково, і ще кращою, якби групи карбонових кислот спочатку були присутні у частині декстрану з нижчою молекулярною масою

Однак цей винахід не обмежується якоюсь конкретною теорією, що стосується обґрунтування задовільної стійкості продукту, одержаного завдяки вищезгаданому варіантові втілення

У декстранах відносно низької молекулярної маси, які спочатку розглядали згідно з даним винаходом, вплив термінальних груп (альдегідні групи, гідрогенізовані у спиртові групи або окиснені у групи карбонових кислот) на полімерних ланцюгах є значно більш явним, ніж у декстранах більш високої молекулярної маси, оскільки фракція (на основі маси) функціональних термінальних груп є вищою. Отже, важливо, щоб групи карбонових кислот, які за інших умов можуть викликати нестійкість, були присутні у фракції молекул декстрану відносно високої молекулярної маси

В оптимальному варіанті гідрогенізацію здійснюють за допомогою боргідриду натрію у водному розчині

Окиснення в оптимальному варіанті здійснюють за допомогою ппохлориту, краще - іпохлориту натрію, в основному, водному розчині

Важливо застосовувати окиснювач, що має окиснювальну здатність, придатну для перетворення альдегідних груп на групи карбонових кислот без впливу на інші ділянки молекул декстрану. Шляхом випробування на основі ЯМР-аналізу отриманих в результаті декстранів виявили, що іпохлорит натрію у цьому відношенні є придатним окиснювачем, оскільки здається, що всі атоми кисню, введені шляхом окиснення, є присутніми у групах карбонових кислот

Спосіб даного винаходу, в принципі, не обмежується застосуванням декстранів, що мають конкретні показники молекулярної маси та розподілу молекулярної маси, однак перевагу віддають застосуванню декстрану, який до утворення сполуки залізо-декстран має молекулярну масу, нижчу за 7500Да. Для отримання продукту, який з загальних міркувань вважають найбільш придатним для лікування викликаної браком заліза анемії, перевагу віддають варіантові втілення способу, в якому після гідролізу, але до комбінування з розчинною у воді сіллю заліза декстран очищують одним або кількома мембранними способами з застосуванням мембрани, що має показник пропускання, придатний для утримання декстрану з молекуляр-

ною масою понад 2700Да, можливо, з подальшим гідролізом та з подальшим виконанням одного або кількох мембранних способів із застосуванням мембран з показником пропускання від 340 до 800Да, що видаляють менші молекули

Оптимальний варіант втілення включає такі заключні етапи способу

одержання водного розчину, що включає очищений гідрогенізований і окиснений декстран та принаймні одну розчинну у воді сіль заліза,

доведення рН вищезгаданого водного розчину до показника більше 10 шляхом додавання основи,

нагрівання суміші до температури понад 100°C, доки вона не перетвориться на чорний або темно-бурий колоїдний розчин, який після цього фільтрують крізь фільтр 0,45мкм, і

подальшу нейтралізацію, очищення та стабілізацію з застосуванням фільтрування, нагрівання та мембранних способів і додавання одного або кількох стабілізаторів, а також необов'язкового висушування розчину для отримання потрібної сполуки залізо-декстран у вигляді стійкого порошку. Рідини для ін'єкцій одержують шляхом повторного розчинення цього порошку, регулювання рН, стерилізації шляхом фільтрування та поміщення в ампули або флакони. Стерилізація також може довершуватися автоклавною обробкою заповнених ампул або флаконів

В альтернативному варіанті операцію висушування пропускають і рідину для ін'єкцій одержують з очищеного розчину без її проміжного висушування

Як було пояснено вище, характерною ознакою винаходу є врегулювання співвідношення альдегідних груп гідрогенізованого декстрану та груп декстранів окисненого альдегіду, а також загального відсотка таких груп

Суттєвим є те, що практично всі відновлювальні групи у гідролізованому декстрані, застосовані як вихідний матеріал, перетворюються шляхом гідрогенізації або окиснення. Причиною є те, що будь-які відновлювальні групи, що залишаються, реагують зі сполуками заліза при контакті з ними для утворення залізних сполук, які при парентеральному введенні є більш токсичними, ніж залізні сполуки

Таким чином, інший оптимальний варіант втілення способу згідно з винаходом характеризується тим, що окиснення гідролізованого і гідрогенізованого декстрану здійснюють з метою зниження вмісту відновлювального цукру до рівня, що не перевищує 4% за масою. Кількість відновлювального цукру у гідролізованому декстрані перед гідрогенізацією у жодну рази не є вирішальною і, як правило, становить від 20 до 50% за масою

Винахід також включає сполуку залізо-декстран та одержану вищевказаним способом сполуку, яка характеризується тим, що видимий пік її молекулярної маси (Мр) становить 50000-150000Да, краще - 70000 - 130000Да, ще краще - від 80000 до 120000Да, а вміст заліза становить >15-45% за масою. Коли водну композицію такої сполуки залізо-декстран внутрішньом'язово вводять пацієнтові, що страждає від викликаної браком заліза анемії, позитивний вплив на продукту-

вання гемоглобіну може спостерігатися раніше, ніж при відповідній кількості заліза, введеного у складі композиції на основі існуючих на ринку сполук залізо-декстран, що мають видимий пік молекулярної маси нижче 150000Да

У даному описі та у формулі, що додається, позначення молекулярної маси стосуються маси, визначеної шляхом гель-проникної хроматографії

Стійкість визначали як відсутність видимих шкідливих змін, таких, як утворення гелю або осадження продукту після нагрівання до 70°C або вищої температури протягом 10хв

Винахід також включає фармацевтичну композицію для профілактики або лікування браку заліза шляхом парентерального введення, яка характеризується тим, що вона включає вищезазначену сполуку

Така фармацевтична композиція в оптимальному варіанті як стабілізатор також включає сіль органічної оксикислоти, краще - вибрану з-поміж цитратів та глюконатів

І нарешті, винахід включає застосування сполуки залізо-декстран, як вказано вище, для одержання терапевтичної композиції для парентерального введення для профілактики або лікування браку заліза шляхом парентерального введення

Винахід докладніше пояснюється за допомогою нижчеподаних прикладів, які не є вичерпними

#### Приклад 1

(i) Гідроліз, гідрогенізація та окиснення декстрану

2,522кг гідролізованого декстрану, зібраного як розчинена речовина з мембрани, що має показник пропускання <5000Да, гідролізують при рН1,5 при температурі 95°C

Гідроліз контролювали із застосуванням гель-проникної хроматографії (GPC) і припиняли шляхом охолодження, коли визначали, що молекулярна маса матеріалу, який піддавали гідролізові, досягла потрібного значення, тобто, вагової середньої молекулярної маси 700-1400Да

Шляхом гідролізу отримують декстран низької молекулярної маси, але при цьому також утворюється глюкоза. Після охолодження та нейтралізації кількість глюкози та oligomerів з дуже низькою молекулярною масою зменшують за допомогою мембрани, що має показник пропускання 340-800Да

Після цього шляхом оптичного обертання визначали вміст декстрану ( $\alpha_D^{20} \sim 200$ ), який становив 1976кг, а кількість відновлювального цукру, визначена із застосуванням реагента Somogyi, становила 32,0% за масою

Відновлювальну здатність спочатку знижують шляхом обробки боргідридом натрію. До 939кг декстрану додають 18,4кг боргідриду натрію при основному рН. Завдяки цій частковій гідрогенізації можна розраховувати, що серед підданих гідрогенізації альдегідних груп більшість складатимуть декстрини з відносно низькою молекулярною масою

Після обробки боргідридом натрію відновлювальна здатність становить 6,53% за масою

Після цього розчин нейтралізують до рН < 7,0, а згодом деіонізують. Середню молекулярну масу та розподіл молекулярної маси визначають шля-

хом хроматографії

Хроматографія також виявляє, що 90% за масою декстрану має молекулярну масу менше, ніж 2700Да, і що вагова середня молекулярна маса ( $M_w$ ) 10% за масою фракції декстрану, що має найвищу молекулярну масу, становить менше 3200Да

Було виявлено, що  $M_w$  становить 1200, а числова середня молекулярна маса ( $M_n$ ) становить 800Да

Після цього здійснюють окиснення, застосовуючи гіпохлорит натрію при pH9,5 і при температурі 50°C. Додають 1075л 15% водного розчину NaOCl (маса/об'єм)

По закінченні окиснення кількість відновлювального цукру становить 0,9% за масою

Після окиснення здійснюють діафільтрування на чистій воді для отримання питомої провідності 3мS/см. Кількість декстрану на цьому етапі становила 635кг. ЯМР-аналіз показував, що всі атоми кисню з подвійними зв'язками були присутні як групи карбонових кислот

(ii) Синтез сполуки залізо-декстран

300кг декстрану, одержаного, як вказано вище, у вигляді 15% розчину змішують з 300кг  $FeCl_3 \cdot xH_2O$

До суміші при перемішуванні додають 250кг  $Na_2CO_3$  у вигляді насиченого водного розчину для доведення до pH3,5, а після цього pH підвищують до 11,5, застосовуючи 50 літрів концентрованого водного розчину NaOH (27% маса/об'єм)

Одержану таким чином суміш нагрівають до температури понад 100°C, доки вона не перетвориться на чорний або темно-бурий колоїдний розчин, який фільтрують крізь 0,45мкм фільтр. Розчин охолоджують, нейтралізують до pH5,00, застосовуючи концентровану хлористоводневу кислоту, і фільтрують. Розчин очищують, застосовуючи мембранні способи, доки вміст хлориду у розчині не стане меншим за 0,68% (розрахованих на основі розчину, що містить 5% (маса/об'єм) заліза)

Якщо вміст хлориду у розчині є меншим, ніж потрібно для отримання ізотонічного розчину, додають хлорид натрію, pH остаточно доводять до 5,6 і розчин фільтрують крізь 0,45мкм (або, в альтернативному варіанті, 0,2мкм) мембранний фільтр

Розчин висушують розпилюванням, і одержують залізо-декстрановий порошок, готовий для реалізації або подальшої обробки

У варіанті з альтернативним висушуванням розпилюванням розчин застосовують для безпосереднього одержання рідини для ін'єкцій, що має

вміст заліза, наприклад, 5%, як описано вище

При застосуванні залізо-декстранового порошку для одержання рідин для ін'єкцій або вливання порошок знову розчиняють у водному середовищі, перевіряють рівень pH, якщо необхідно, врегулюють, і розчин розливають в ампули або флакони після стерилізації шляхом фільтрування. В альтернативному варіанті стерилізацію здійснюють шляхом автоклавної обробки після поміщення в ампули або флакони

Приклад 2

(i) Гідроліз, гідрогенізація та окиснення декстрану

Цю частину синтезу здійснюють, як описано вище у пункті (i) Прикладу 1

(ii) Синтез сполуки залізо-декстран

240кг вищезгаданого декстрану у вигляді 12% розчину змішують з 300кг  $FeCl_3 \cdot xH_2O$

При перемішуванні до суміші додають 250кг  $Na_2CO_3$  у вигляді насиченого водного розчину для отримання рівня pH3,5, а після цього pH суміші підвищують до pH11,6, застосовуючи 50 літрів концентрованого водного розчину NaOH (27% маса/об'єм)

Одержану таким чином суміш нагрівають до температури понад 100°C, доки вона не перетвориться на чорний або темно-бурий колоїдний розчин, який фільтрують крізь 0,45 мкм фільтр. Розчин охолоджують, нейтралізують до pH 5,3, застосовуючи концентровану хлористоводневу кислоту, і фільтрують. Розчин очищують, застосовуючи мембранні способи, доки вміст хлориду не стане меншим, ніж 0,68%, (розрахованих на основі розчину, що містить 5% заліза (маса/об'єм))

Якщо розчин на цьому етапі нагрівають до температури понад 100°C протягом 2 годин, видимий пік молекулярної маси ( $M_w$ ) після охолодження становить 104898Да. Розчин є стійким

Розчин висушують розпилюванням, і залізо-декстрановий порошок, таким чином, є готовим

Цей порошок є придатним для одержання рідкої залізо-декстранової композиції, що містить приблизно 5% заліза (маса/об'єм)

В обох прикладах вихідна кількість залізо-декстранового порошку становить понад 95%, (розрахованих на основі заліза, застосованого у цьому способі)

Приклад 3

Інші залізо-декстранові композиції одержували із застосуванням процедур, подібних до описаних у Прикладах 1 та 2. Характеристики вихідних матеріалів, проміжних та кінцевих продуктів подано нижче у таблиці

Таблиця

Синтез №	1	2	3	4	5
$M_w$ гідролізованого декстрану (Да)	6200	2566	1212	1212	922
Відновлювальні цукри після етапу відновлення	4,4% за масою	14,4% за масою	6,5% за масою	6,5% за масою	8,9% за масою
Відновлювальні цукри після етапу окиснення	1,2% за масою	3,0% за масою	0,9% за масою	0,9% за масою	1,8% за масою

Продовження таблиці

Синтез №	1	2	3	4	5
Застосована кількість відновленого та окисненого декстрану	240кг	240кг	300кг	240кг	240кг
Застосована кількість $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	300кг	300кг	300кг	300кг	300кг
Мр сполуки залізо-декстран (Да)	126,350	102,653	88,146	96,875	88,326
Стійкість	Так	Так	Так	Так	Так*

\*) Випробування стійкості при 70°C протягом 10хв

Таким чином, існує можливість утворення стійких залізо-декстранових композицій низької молекулярної маси із застосуванням декстранів різного ступеня гідрогенізації та окиснення у межах обсягу даного винаходу

Приклад 4 (Порівняльний приклад)

604кг декстрану з Mw 1209Да та вмістом відновлювальних цукрів 26,6% за масою без попередньої гідрогенізації окиснюють шляхом обробки за допомогою 1780л 15% (маса/об'єм) розчину  $\text{NaOCl}$  у воді при pH 9,5 і температурі 50°C. Після окиснення визначали вміст відновлювальних цукрів, який становив 0,54%

Попередні спроби синтезувати сполуки залізо-декстран із застосуванням цього окисненого декстрану були невдалими, оскільки суміш, що містить залізо та декстран, утворювала гель ще до додавання всього  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Нагрівання такого гелеподібного розчину не веде до утворення стійкого колоїдного розчину, що піддається фільтруванню

Цей Приклад доводить суттєвість зниження пропорції відновлювальних груп у декстрані шляхом гідрогенізації до здійснення окиснення

Приклад 5

Залізо-декстрановий розчин одержували, як у Прикладі 2

Після видалення хлориду мембранним способом pH доводили до 8,5, застосовуючи 10,5кг лимонної кислоти, розчиненої у водному розчині гідроксиду натрію. Розчин після цього нагрівали до температури понад 100°C протягом 2 годин. Після охолодження pH доводять до 5,6, застосовуючи концентровану хлористоводневу кислоту. Розчин доводять до концентрації, що відповідає 5,0% заліза (маса/об'єм). Визначають видимий пік молекулярної маси, який дорівнює 111,666, і сполука є стійкою

Порівнюючи цей Приклад з Прикладом 2, можна побачити, що додавання цитрату суттєво не змінює молекулярну масу залізо-декстранового продукту