



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **146044** (13) **U**

(51) МПК (2021.01)

C07D 231/26 (2006.01)

A61K 33/14 (2006.01)

C01D 1/04 (2006.01)

C01D 5/00

A61K 31/661 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 02827	(72) Винахідник(и): Гуменюк Микола Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 12.05.2020	(73) Володілець (володільці): ТОВ "МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "М.Т.К.", вул. Миколи Амосова, буд. 10, м. Київ, 03038 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 21.01.2021	(74) Представник: ГАВРИЛЕЙ ЛАРИСА МИКОЛАЇВНА
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 20.01.2021, Бюл.№ 3	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ, ЩО МІСТИТЬ ЕДАРАВОН ЯК АКТИВНИЙ АГЕНТ

(57) Реферат:

Спосіб одержання фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби, що містить як діючу речовину едаравон, як ізотонічний агент - хлорид натрію, як корегенти рН - гідроксид натрію або калію і фосфорну кислоту та як розчинник - воду для ін'єкцій, де як антиоксидант замість L- цистеїну використовують метабісульфіт натрію, який включає наступні стадії: i) одержують едаравон за відомою схемою синтезу; наступні стадії здійснюють в одному реакторі шляхом послідовного завантаження компонентів; ii) у реактор з розчином для ін'єкцій завантажують ізотонічний агент; iii) завантажують корегент рН; iv) створюють азотний шар; v) завантажують антиоксидант; vi) завантажують едаравон; vii) завантажують корегент рН.

UA 146044 U

UA 146044 U

Корисна модель належить до галузі фармацевтики, зокрема до засобів для лікування ішемічного інсульту та/або бічного аміотрофічного склерозу.

Є відомим те, що вільні радикали грають важливу роль у пошкодженні, яке виникає в результаті ішемії головного мозку. Ішемія або ішемія з наступною реперфузією призводить до збільшення продукції вільних радикалів, що атакують клітинні мембрани шляхом окислення ненасичених жирних кислот у фосфоліпідах у перекиси і сполуки. Отримана ланцюгова реакція призводить до ішемічного пошкодження головного мозку, що проявляється у вигляді набряку, інфаркту та нейропатії (Yanxin Ren, Bing Wei, Xirui Song, Nan An, Yiyang Zhou, Xinxin Jin & Yuyang Zhang (2015). Edaravone's free radical scavenging mechanisms of neuroprotection against cerebral ischemia: review of the literature, *International Journal of Neuroscience*, 125:8, 555-565, DOI: 10.3109/00207454.2014.959121).

Також, окислювальний стрес, який індукований вільними радикалами, вважають одним з факторів, що задіяні при маніфестації та прогресуванні бічного аміотрофічного склерозу (БАС). БАС є нейродегенеративним захворюванням, при якому верхні та нижні мотонейрони спорадично та прогресуючи дегенеративно змінюються та гинуть, розвивається генералізована м'язова атрофія та слабкість. [*J. Clin. Biochem. Nutr.* January 2018. Vol. 62, № 1. P. 20-38].

Сполука едаравон, на основі якої виготовляють препарат, відомий під різними назвами, являє собою скавендер вільних радикалів та антиоксидант з функцією цитопротекції та нейропротекції. Позбавляючи від вільних радикалів та інгібуючи перекисне окислення ліпідів, едаравон запобігає окислювальному ураженню клітин мозку. Іншими словами, едаравон захищає мозок у разі гострого ішемічного інсульту шляхом здійснення його інгібіторної дії проти розвитку та прогресування (загострення) ішемічного пошкодження внаслідок атеросклеротичної або емболічної закупорки судин, що проявляється інфарктом мозку, набряком мозку, неврологічним дефіцитом та затримує віддалену смертність нейронів. При БАС едаравон пригнічує прогресування захворювання, здійснюючи інгібіторну дію проти розвитку окисного пошкодження нервових клітин.

До груп хворих, які потребують терапії при ішемічних (інсульт) та дегенеративних захворюваннях, таких як БАС, входять також й пацієнти з цукровим діабетом (ЦД). Якщо інсульт або БАС розвиваються на тлі ЦД, окислювальний стрес підсилюється гіперглікемією, яка є важливим обтяжуючим фактором пошкодження серцево-судинної системи, що діє через різноманітні механізми, такі як активація протеїн кінази С, шляхи поліолів та гексозамінів, продукування кінцевих продуктів гліколювання. Всі зазначені шляхи у поєднанні з гіперглікемічною індукованою дисфункцією мітохондрій і стресом ендоплазматичного ретикулуму сприяють накопиченню активних форм кисню, які, в свою чергу, сприяють пошкодженню клітин, розвитку та прогресуванню діабетичних ускладнень (Fiorentino, T. V., Priolella, A., Zuo, P. et al. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Curr Pharm Des.* 2013; 19: 5695-5703).

Окислювальний стрес, викликаний гіперглікемією та дисліпідемією, є основним фактором, що посилюється внаслідок утворення кінцевих продуктів гліколювання (AGE) та активації поліольного шляху. Існує декілька поліморфних шляхів, що призводять до окислювального стресу, які викликані реакціями гліколювання та генетичними змінами в генах антиоксидантів, що можуть бути включені до патогенезу діабетичної нейропатії (ДН) (*Cell Biochem Biophys.* 2015 Apr; 71(3): 1425-43. doi: 10.1007/s12013-014-0365-y. The Role of Oxidative Stress in Diabetic Neuropathy: Generation of Free Radical Species in the Glycation Reaction and Gene Polymorphisms Encoding Antioxidant Enzymes to Genetic Susceptibility to Diabetic Neuropathy in Population of Type I Diabetic Patients. Babizhayev M. A. Stokov I. A., Nosikov V. V., Savel'yeva E. L., Sitnikov V. F., Yegorov Y. E., Lankin V. Z.).

Таким чином очевидним є те, що група хворих з БАС та/або ішемічними ускладненнями, що має супутні хвороби, пов'язані з гіперглікемічними проявами, потребує інтенсивної антиоксидативної терапії і щодо БАС та/або ішемічної хвороби, і щодо супутніх хвороб, наприклад, ЦД.

Зазначимо, що здебільшого сучасний препарат проти ішемічної хвороби та БАС на основі сполуки едаравон виготовляють у вигляді прозорого безбарвного стерильного ізотонічного розчину для ін'єкцій, до складу якого входить як активна речовина едаравон, так і допоміжні речовини, зокрема й гідрат L- цистеїну гідро хлорид (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5737249/>).

В той же час, відомі наукові дослідження свідчать про те, що L- цистеїн суттєво інгібує секрецію інсуліну за рахунок множинних дій на секреторний процес інсуліну через продукування сірководню (H₂S), а, як відомо, активність H(2)S-продукуючих ферментів та вміст H₂S в тканинах в умовах діабету підвищується. (1-Cysteine Inhibits Insulin Release From the Pancreatic β-Cell.

Possible Involvement of Metabolic Production of Hydrogen Sulfide, a Novel Gasotransmitter. Yukiko Kanekol, Yuka Kimura², Hideo Kimura² and Ichiro Nikil. Diabetes 2006 May; 55(5): 1391-1397). Також у відомих джерелах зазначають, що збільшення концентрації L- цистеїну в плазмі тісно пов'язано з дефектом секреції інсуліну β - клітинами підшлункової залози, що призводить до діабету 2 типу ((T2D) 1-cysteine reversibly inhibits glucose-induced biphasic insulin secretion and ATP production by inactivating PKM2. Daiki Nakatsu, Yuta Horiuchi, Fumi Kano, Yoshiyuki Noguchi, Taichi Sugawara, Iseki Takamoto, Naoto Kubota, Takashi Kadowaki, and Masayuki Murata. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) PNAS March 10, 2015 112 (10) E1067-E1076; first published February 23, 2015).

Крім того, харчові добавки, у складі яких є цистеїн, мають прями протипоказання для хворих на цукровий діабет саме з цієї причини, що цистеїн інгібує синтез інсуліну (<https://edaplus.info/food-components/cysteine.html>, <https://himya.ru/cistein.html>).

Отже, виходячи з вищевикладеного, очевидним є те, що застосування цистеїну у композиціях лікарського засобу зі сполукою едаравон є неефективним у групі хворих на БАС та/або ішемічну хворобу, що мають супутні патології, пов'язані з порушенням синтезу інсуліну.

Також, слід зазначити наступне. Під час проведення ряду досліджень референтного препарату розробники лікарського засобу виявили ознаки, що вказують на наявність домішок у препараті, які перебільшують припустимі норми відповідно до настанови ICH Q3B (International conference on harmonisation of technical requirements for registration of Pharmaceuticals for human use. Ich harmonised tripartite guideline, impurities in new drug products Q3B(R2). Current Step 4 version dated 2 June 2006), та, як показали подальші дослідження, вказують на компоненту композиції, що відповідає L-цистеїну.

Також, під час дослідження розчину готового референтного лікарського засобу розробники виявили утворення домішок, що свідчило про недосконалість стабілізаційної та антиоксидантної систем готового препарату.

Отже, недоліками відомого готового препарату, до складу якого входить едаравон, є обмеження у застосуванні по групі, якій цистеїн протипоказаний, наявність у складі готового препарату домішок в кількості, що перебільшує визначену настановою ICH Q3B (далі по тексті), а також недосконалість стабілізаційна та антиоксидантна системи готового лікарського засобу.

В основу корисної моделі поставлена задача покращення властивостей препарату на основі едаравону, - дослідити хімічні та фізичні властивості референтного препарату та створити препарат на основі композиції, яка виключала би недоліки відомих лікарських засобів едаравону для лікування БАС та ішемічної хвороби. Крім того, постала потреба у пошуках заміни L-цистеїну, що за своєю функцією у готовому препараті є стабілізатором (антиокислювачем), на більш ефективний компонент, що не поступається за властивостями L-цистеїну. Також розробити більш ефективну стабілізаційну систему готового лікарського засобу. На основі вказаних завдань створити спосіб одержання покращеної (удосконаленої) фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби на основі діючої речовини - едаравону.

Задача вирішена шляхом створення фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби, що містить як діючу речовину едаравон, як ізотонічний агент - хлорид натрію, як корегент рН - гідроксид натрію або калію і фосфорну кислоту та як розчинник - воду для ін'єкцій, яка як антиоксидант замість L- цистеїну містить метабісульфіт натрію. Композиція містить едаравон у кількості 0,3-2,0 мг/мл, метабісульфіт натрію - 0,1-1,0 мг/мл, хлорид натрію - 5,0-9,0 мг/мл, гідроксид натрію або калію - 1-2 мг/мл та фосфорну кислоту в кількості, необхідній для доведення рН розчину до 2,7-4,7, вода для ін'єкцій - до 1 мл.

Кращим варіантом втілення корисної моделі є композиція, яка містить едаравон у кількості 1,5 мг/мл, метабісульфіт натрію - 1 мг/мл, хлорид натрію - 6,75 мг/мл, гідроксид натрію - 1,5 мг/мл та фосфорну кислоту в кількості необхідній для доведення рН розчину до 2,7-4,7, вода для ін'єкцій - до 1 мл. Для підтримання осмоляльності розчину 270-330 мОсмоль вміст хлориду натрію в композиції складає 6,75 мг/мл.

Також, створено спосіб одержання фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби, який передбачає наступні стадії: i) одержують едаравон за відомою схемою синтезу; наступні стадії здійснюють в одному реакторі шляхом послідовного завантаження компонентів; ii) у реактор з розчином для ін'єкцій завантажують ізотонічний агент; iii) завантажують корегент рН; iv) створюють азотний шар; v) завантажують антиоксидант; vi) завантажують едаравон; vii) завантажують корегент рН.

В одному з варіантів втілення корисної моделі у способі на стадії (ii) як ізотонічний агент використовують хлорид натрію; на стадії (iii) як корегент рН використовують гідроксид натрію

або калію і здійснюють контроль pH - 10-11; на стадії (v) як антиоксидант використовують метабісульфіт натрію; на стадії (vii) як корегент pH використовують фосфорну кислоту, здійснюють контроль pH 2,7-4,7, осмоляльність доводять до 270-330 мОсмоль.

В іншому варіанті втілення способу одержання фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби передбачає наступні стадії: i) одержують едаравон за відомою схемою синтезу; наступні стадії здійснюють в одному реакторі шляхом послідовного завантаження компонентів; ii) у реактор з розчином для ін'єкцій завантажують ізотонічний агент; iii) завантажують корегент pH; iv) створюють азотний шар; v) завантажують едаравон; vi) завантажують корегент pH; vii) завантажують антиоксидант.

В одному з варіантів втілення способу передбачає на стадії (ii) як ізотонічний агент використання хлориду натрію; на стадії (iii) як корегент pH використання гідроксиду натрію або калію і здійснення контролю pH - 10-11; на стадії (vi) як антиоксидант використання метабісульфіту натрію; на стадії (vii) як корегент pH використання фосфорної кислоти, здійснення контролю pH 2,7-4,7, доведення осмоляльності до 270-330 мОсмоль.

Застосування композиції не обмежене застосуванням препарату у частини цільової групи пацієнтів. До композиції включені нові компоненти, що не суперечать загальному призначенню референтного препарату та забезпечують більш ефективні властивості стабільності та зберігання готового лікарського засобу. Крім того, спосіб виготовлення препарату забезпечує кращі властивості щодо стабілізації препарату та терміну його придатності.

Фіг. 1. Хроматографічне дослідження, хроматограма препарату, що відповідає референтному.

Фіг. 2. Хроматографічне дослідження, хроматограма препарату, що відповідає за складом референтному, з якого вилучили L-цистеїну гідрохлориду гідрат.

Фіг. 3. Хроматографічне дослідження, хроматограма препарату, що відповідає референтному, з якого вилучили едаравон.

Фіг. 4. Хроматографічне дослідження, хроматограма препарату розчину едаравону у безцистеїновій композиції 1:500.

Фіг. 5. Хроматографічне дослідження, хроматограма нового препарату (без цистеїну).

Фіг. 6. Схема синтезу едаравону.

Дослідження проводили методом високоефективної рідинної хроматографії для визначення піків, що вказують на наявність домішок; також, вивчали стабільність препарату під дією температур та при різних pH, і за показниками наявності домішок, визначали характеристики стабільності препарату.

Приклад 1

Хроматографічне дослідження препарату, що відповідає за складом референтному, щодо безпечності

Наявність домішок досліджували методом високоефективної рідинної хроматографії (high-performance liquid chromatography (HPLC)). Домішками вважають продукти розпаду, що виникли в результаті хімічної зміни лікарської речовини, що відбувається під час виробництва та/або зберігання нового лікарського продукту під дією, наприклад, світла, температури, pH, вологості, або в результаті реакції з наповнювачем. Відповідно до настанови ICH Q3B (International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration

Of Pharmaceuticals For Human Use. Ich Harmonised Tripartite Guideline. Impurities In New Drug Products Q3b(R2). Current Step 4 version dated 2 June 2006.), для продуктів розпаду при максимальній добовій дозі споживання від 10 мг до 2 г порогове значення утворення домішок не повинно перебільшувати 0,2 % або 2 мг загального добового вживання. Відповідно до Настанови до використання препарату Едаравон (Радікут, 30 мг/20 мл, продається фірмою Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Японія), добова доза вживання становить до 30 мг.

1. Досліджували референтний препарат (Фіг. 1). Препаратом, що відповідає референтному (Радікут) з активною діючою речовиною едаравон, вважали розчин, що містив: едаравону - 30 мг, натрію бісульфіту - 20 мг, L- цистеїну гідрохлориду гідрату - 10 мг, хлориду натрію - 135 мг, натрію гідроксид та/або фосфорної кислоти (для врівноваження pH) у 20 мл розчину.

2. Досліджували препарат, що відповідає за складом референтному, з якого вилучили L-цистеїну гідрохлориду гідрат (Фіг. 2). З препарату, що за складом відповідає референтному препарату вилучали L- цистеїну гідрохлориду гідрат і такий розчин містив 30 мг едаравону, натрію бісульфіту - 20 мг, хлориду натрію - 135 мг, натрію гідроксиду та фосфорної кислоти (для врівноваження pH) у 20 мл розчину.

3. Досліджували препарат, що відповідає референтному, з якого вилучили едаравон (Фіг. 3). З препарату, що відповідає референтному, виключили едаравон і такий розчин містив натрію

бісульфіту - 20 мг, L- цистеїну гідрохлориду гідрат - 10 мг, хлориду натрію - 135 мг, натрію гідроксид та фосфорної кислоти (для врівноваження pH) у 20 мл розчину.

4. Досліджували препарат розчину едаравону у безцистеїновій композиції 1:500 (фіг. 4). Хроматограма препарату з едаравоном, концентрація розчину якого дорівнює 1:500 концентрації едаравону в композиції, що відповідає за складом допоміжних речовин референтному препарату, з якого виключили цистеїн.

Отже, хроматографічне дослідження препарату, що за складом відповідає референтному (Фіг. 1) продемонструвало пік невідомого походження з часом утримування 2,370 хв., який складає більш ніж 0,2 % площі піку едаравону (час утримування 10,062). Всі інші піки на цій хроматограмі відповідають обмеженням для домішок, визначеним у настанові ICH Q3B.

З препарату виключали едаравон. Хроматографічне дослідження композиції без едаравону (Фіг. 3) показало, що вона не містить такої кількості домішок, яка б вимагала подальших досліджень.

З препарату виключали цистеїн і такий розчин піддавали дослідженню. Дослідження безцистеїнової композиції (Фіг. 2) показало відсутність такого піку або якихось інших сигналів, які наближаються за площею піку до 0,2 % едаравону.

Орієнтовна величина піку, вище за який індивідуальна домішка підлягає ідентифікації, показана на Фіг. 4, яка є хроматограмою едаравону, концентрація розчину якого дорівнює 1/500 концентрації едаравону в безцистеїновій композиції.

Приклад 2

Вибір антиоксидантів

До складу оригінального препарату входять 2 антиоксиданти: бісульфіт натрію та L- цистеїну гідрохлориду гідрат. У тестових зразках використовували також і метабісульфіт натрію, оскільки він подібний до бісульфату натрію, але має більший ефект. Були випробувані серії тестових зразків з різною комбінацією антиоксидантів: розчин з L- цистеїном (0,5 мг/мл); розчин з метабісульфітом натрію (0,5 мг/мл, 1,0 мг/мл та 1,5 мг/мл); розчин з бісульфітом натрію (1,0 мг / мл); розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл) та цистеїном (0,5 мг/мл).

1. Випробувальні зразки тестували на аналіз едаравону та домішок до і після стерилізації в автоклаві при 121 °C протягом 15 хвилин (Табл. 1, Табл. 2).

Таблица 1

Результати, одержані до стерилізації

Тестовані зразки	Максимальні домішки, %	Сума домішок, %	Дослідження едаравону, %
Розчин з L- цистеїном (0,5 мг/ мл)	0,22	0,23	98,7
Розчин з метабісульфітом натрію 0,5 мг/мл	0,015	0,020	102,1
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	-	-	102,3
Розчин з метабісульфітом натрію (1,5 мг/мл)	-	-	102,3
Розчин з бісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	-	-	102,4
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/ мл) та цистеїном (0,5 мг/мл)	0,21	0,23	101,9

Таблиця 2

Результати, одержані після стерилізації

Тестовані зразки	Максимальні домішки, %	Сума домішок, %	Дослідження едаравону, %
Розчин з L-цистеїном (0,5 мг/мл)	0,26	0,31	98,6
Розчин з метабісульфітом натрію 0,5 мг/мл	0,015	0,03	102,2
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,014	0,027	102,1
Розчин з метабісульфітом натрію (1,5 мг/мл)	0,014	0,027	101,9
Розчин з бісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,014	0,027	101,7
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл) та цистеїном (0,5 мг/мл)	0,23	0,26	101,5

2. Після порівняння результатів отримали показники присутності певної домішки в зразках з цистеїном, навіть після змішування. Також результати показали, що цистеїн має нижчу антиоксидантну активність, ніж метабісульфіт натрію та бісульфіт натрію.

3. Порівняння метабісульфіту натрію та бісульфіту натрію показало, що вони мають однакову антиоксидантну активність. Але бісульфіт натрію не має монографії в Європейській фармакопеї та в Державній фармакопеї України. Метабісульфіт натрію широко використовують як антиоксидант багатьма європейськими виробниками та країнами СНД. Тому у композиції використали метабісульфіт натрію.

Таким чином, цистеїн виключили з рецептури препарату едаравону, оскільки він має низьку антиоксидантну активність. Крім того, наявність зайвої допоміжної речовини в лікарському препараті є небажаною.

У подальшому розвитку технічного рішення використовували метабісульфіт натрію як антиоксидант у розчині лікарського засобу.

Приклад 3

Вибір оптимальної осмоляльності

Осмоляльність рецептури до рівня 300 мОсмоль була досягнута шляхом додавання 6,75 мг/мл хлориду натрію.

Приклад 4

Вплив температури та рН на стабільність рецептури

1. Дослідження термостабільності проводили при 25 °С, 30 °С, 40 °С. Крім того, дослідження термічного стресу проводили при 121 °С протягом 15 хвилин з використанням автоклава та при 80 °С протягом 2 тижнів. З цих даних було визначено, що розчин нового препарату стійкий до термічної деградації протягом періоду його зберігання та протягом процесу стерилізації.

2. Додатково досліджували вплив рН на стійкість рецептури. Значення рН лабораторних розчинів нового препарату коригували 9 % фосфорною кислотою та 1М NaOH в межах 1-10.

3. Досліджували вплив температури 121 °С протягом 15 хвилин на зразки з різним рН.

Таблиця 3

Вплив температури та рН на стабільність рецептури

Тестовані зразки	рН до	рН після	Максимальні домішки, %	Сума домішок, %	Дослідження едаравону, %
1	1.0	1.21	1.46	2,23	82.0
2	3.0	3.00	0.034	0.049	100.7
3	4.0	3.45	0.043	0.096	100.8
4	4.5	3.65	0.041	0.085	100.8
5	5.0	3.8	0.044	0.094	100.7
6	6.0	4.18	0.36	0.61	98.5
7	7.0	5.33	0.47	1.55	96.1
8	10.0	8.24	0.81	1.72	96.0

Ці дослідження (Табл. 3) демонструють високу термостабільність розчинів нового препарату в діапазоні рН від 3,0 до 5,0. Однак зниження кислотності менше для кислих розчинів, тому вони є більш стійкими, а розроблений лікарський продукт буде більш стабільним у діапазоні рН 3,0-4,5. Також ці дослідження показали, що розчин нового препарату можна було б успішно автоклавувати.

4. Для проведення досліджень стосовно примусової деградації розчин нового препарату з різною антиоксидантною системою піддавали впливу спершу піроксиду водню, а потім температури 80 °С. Накопичення домішок та аналіз діючої речовини вимірювали наприкінці кожного дослідження.

У цих дослідках було використано 4 серії тестових зразків з різною комбінацією антиоксидантів, як і в попередньому дослідженні відбору антиоксидантів:

а) тестові зразки піддавали впливу водню пероксиду протягом 2 днів.

Таблиця 4

Вплив водню пероксиду протягом 2 днів

Тестовані зразки	Максимальні домішки, %	Сума домішок, %	Дослідження едаравону, %
Розчин з L- цистеїном (0,5 мг/мл)	1,24	1,56	97,8
Розчин з метабісульфітом натрію (0,5 мг/мл)	0,59	0,78	99,9
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,39	0,53	99,8
Розчин з метабісульфітом натрію (1,5 мг/мл)	0,31	0,45	99,9
Розчин з бісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,42	0,54	99,3
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг / мл) та цистеїном (0,5 мг / мл)	0,56	0,87	98,4

Одержані дані (Табл. 4) дозволили зробити висновок, що розчин нового препарату є досить стійким до окислювачів. Але, за наявності L-цистеїну деградація діючої речовини є набагато більшою, ніж в інших зразках. Як було зазначено вище, L- цистеїн виключають з рецептури для підвищення стабільності лікарського засобу;

б) витримування досліджуваних зразків за температури 80° С тривало протягом 2 тижнів.

Таблиця 5

Витримування досліджуваних зразків за температури 80° С тривало протягом 2 тижнів

Тестовані зразки	Максимальні домішки, %	Сума домішок, %	Дослідження едаравону, %
Розчин з L-цистеїном (0,5 мг/мл)	0,28	0,35	100,1
Розчин з метабісульфітом натрію (0,5 мг/мл)	0,09	0,14	100,3
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,06	0,09	100,1
Розчин з метабісульфітом натрію (1,5 мг/мл)	0,05	0,08	100,8
Розчин з бісульфітом натрію (1,0 мг/мл)	0,07	0,11	99,6
Розчин з метабісульфітом натрію (1,0 мг/мл) та цистеїном (0,5 мг/мл)	0,26	0,31	99,9

Одержані результати (Табл. 5) підтвердили, що у присутності L-цистеїну розчин нового препарату є менш стійким. У цьому дослідженні для зразків з L-цистеїном спостерігали дещо більше домішок, ніж для інших зразків;

в) провели хроматографічне дослідження нового препарату (без цистеїну) (Фіг. 5).

5 Приклад 5

На кінець для кращої стабільності лікарського засобу було прийнято рішення змінити антиоксидантну систему.

Готували різні варіанти композиції (розчину) едаравону.

Варіанти наведені у Таблицях 6-24 (Приклади 5.1-5.19).

10

Таблиця

Приклад 5.1

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид натрію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 7

Приклад 5.2

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Оцтова кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 8

Приклад 5.3

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Карбонат натрію	1-2 мг/мл
Соляна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 9

Приклад 5.4

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідрокарбонат натрію	1-2 мг/мл
Лимонна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 10

Приклад 5.5

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5.0-9,0
Гідроксид натрію	1-2 мг/мл
Соляна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 11

Приклад 5.6

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0.3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5.0-9.0
Гідроксид натрію	1-2 мг/мл
Оцтова кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 12

Приклад 5.7

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид натрію	1-2 мг/мл
Лимонна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 13

Приклад 5.8

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

5

Таблиця 14

Приклад 5.9

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Оцтова кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 15

Приклад 5.10

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Соляна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 16

Приклад 5.11

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Лимонна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 17

Приклад 5.12

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Карбонат натрію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 18

Приклад 5.13

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Карбонат натрію	1-2 мг/мл
Оцтова кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

5

Таблиця 19

Приклад 5.14

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Карбонат натрію	1-2 мг/мл
Соляна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 20

Приклад 5.15

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Карбонат натрію	1-2 мг/мл
Лимонна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 21

Приклад 5.16

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідрокарбонат натрію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	До 1 мл

Таблиця 22

Приклад 5.17

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідрокарбонат натрію	1-2 мг/мл
Оцтова кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 23

Приклад 5.18

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідрокарбонат натрію	1-2 мг/мл
Соляна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

5

Таблиця 24

Приклад 5.19

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	0,1-1,0
Хлорид натрію	5,0-9,0
Гідрокарбонат натрію	1-2 мг/мл
Лимонна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Після порівняння всіх антиоксидантних систем, що винахідники аналізували у своїх дослідженнях, вирішили використовувати в запропонованій рецептурі лише метабісульфіт натрію в концентрації від 0,1 до 1 мг/мл. Цей антиоксидант захищає діючу речовину від окислювачів та в умовах термічного стресу. У даних дослідженнях продемонстровано, що утворення домішок у лікарському продукті з метабісульфітом натрію було мінімальним.

Наступний варіант композиції лікарського засобу визначили як найкращий (Табл. 25):

Таблиця 25

Варіант композиції лікарського засобу визначили як найкращий

Склад препарату	Функція	Вміст мг/мл
Едаравон	Активний інгредієнт	0,3-2,0
Метабісульфіт натрію	Антиоксидант	0,1-1,0
Хлорид натрію	Тонізуючий агент	5,0-9,0
Гідроксид натрію	pH стабілізатор	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	pH стабілізатор	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	Розчинник	до 1 мл

pH розчину лікарського засобу знаходився в діапазоні від 2,7 до 4,7. Цей діапазон pH є необхідним для забезпечення стабільності активного інгредієнта, що було доведено в дослідженнях стійкості форсованого складу.

Осмоляльність розчину є ізотонічною для рідин організму, а осмоляльність розчину едаравону знаходиться в діапазоні від 270 до 330 мОсмоль.

Підбір концентрацій у визначеному складі препарату наведений у прикладах 5.20-5.23 (Табл. 26-29).

Одержували едаравон згідно з відомою схемою синтезу (Фіг. 6).

Далі всі стадії приготування розчину препарату з едаравоном здійснюють в одному реакторі шляхом послідовного завантаження компонентів. Вказаний спосіб передбачає наступні етапи:

- 1) у реактор з розчином для ін'єкцій завантажують хлорид натрію;
- 2) додають (завантажують) гідроксид натрію або калію, контроль pH 10-11;
- 3) створюють азотний шар;
- 4) завантажують метабісульфіт натрію;
- 5) завантажують едаравон;
- 6) завантажують фосфорну кислоту, здійснюють контроль pH 2,7-4,7.

Під час створення азотного шару кисень витискається, що унеможливорює окислення метабісульфіту та едаравону в реакторі.

Здійснюють контроль готового розчину, його pH має становити 2,7-4,7, а осмоляльність - 270-330 мОсмоль.

В іншому варіанті здійснення послідовності завантаження компонентів змінена та обумовлена наступним.

1. Спочатку завантажують хлорид натрію як найбільш стабільний компонент розчину.
2. Далі завантажують натрію гідроксид (або калію гідроксид) для створення основної pH (едаравон розчиняється у воді тільки при лужному pH). Здійснюють контроль pH - 10-11.
3. Потім подають азот для витіснення кисню, який може окислювати едаравон.
4. Наступним завантажують едаравон.

5. Далі додають фосфорну кислоту для отримання кислої pH. Тільки у кислому середовищі забезпечується стабільність едаравону та, особливо, натрію метабісульфіту. Здійснюють контроль pH 2,7-4,7, осмоляльність доводять до 270-330 мОсмоль.

6. Потім завантажують антиоксидант натрію метабісульфіт до вже підкисленого розчину, що забезпечує його довготривалу стабільність та, відповідно, надійний захист едаравону.

У попередньому варіанті здійснення зазначено, що антиоксидант завантажують перед активною речовиною, щоб починати його захищати вже з моменту внесення. Однак у даному способі вносять метабісульфіт в останню чергу, щоб захистити його від деградації у лужній pH, в якій він руйнується. Таким чином, на початковому етапі технічного процесу втрачається невелика частина едаравону (до внесення антиоксиданту), але зберігається весь антиоксидант та створюються умови для стабілізації едаравону протягом всього терміну придатності.

Таблиця 26

Приклад 5.20

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,3
Метабісульфіт натрію	0,1
Хлорид натрію	5
Гідроксид натрію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 27

Приклад 5.21

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	2
Метабісульфіт натрію	1
Хлорид натрію	9
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 28

Приклад 5.22

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	1
Метабісульфіт натрію	0,5
Хлорид натрію	8
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

Таблиця 29

Приклад 5.23

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	0,5
Метабісульфіт натрію	0,3
Хлорид натрію	7
Гідроксид калію	1-2 мг/мл
Фосфорна кислота	1-2 мг/мл
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

5

Таблиця 30

Приклад 5.24

Складовий компонент	Вміст мг/мл
Едаравон	1,5
Метабісульфіт натрію	1
Хлорид натрію	6,75
Гідроксид калію	1,5
Фосфорна кислота	1,5
Вода для ін'єкцій	до 1 мл

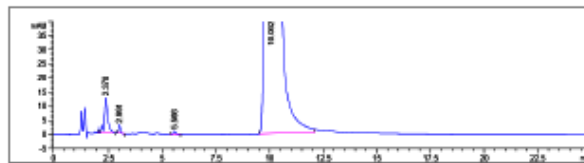
Зазначений варіант є найкращим (Табл. 30, приклад 5.24).

Таким чином, створено нову композицію на основі сполуки едаравон для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби без обмеження у застосуванні для пацієнтів, що мають як супутню хворобу цукровий діабет. Створено композицію з удосконаленою антиоксидантною та стабілізаційною системою. Розроблено та описано спосіб її виготовлення у різних варіантах. Спосіб одержання фармацевтичної композиції, що містить едаравон як активний агент є новим та доведено його промислова придатність.

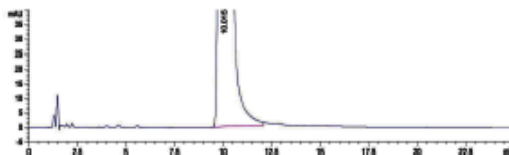
ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб одержання фармацевтичної композиції для лікування бічного аміотрофічного склерозу та ішемічної хвороби, що містить як діючу речовину едаравон, як ізотонічний агент - хлорид натрію, як корегенти рН - гідроксид натрію або калію і фосфорну кислоту та як розчинник - воду для ін'єкцій, де як антиоксидант замість L-цистеїну використовують метабісульфіт натрію, який включає наступні стадії: i) одержують едаравон за відомою схемою синтезу; наступні стадії здійснюють в одному реакторі шляхом послідовного завантаження компонентів; ii) у реактор з розчином для ін'єкцій завантажують ізотонічний агент; iii) завантажують корегент рН; iv) створюють азотний шар; v) завантажують антиоксидант; vi) завантажують едаравон; vii) завантажують корегент рН.

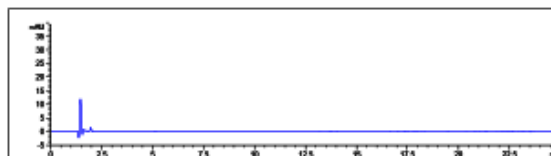
2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що на стадії (ii) як ізотонічний агент використовують хлорид натрію; на стадії (iii) як корегент рН використовують гідроксид натрію або калію і здійснюють контроль рН - 10-11; на стадії (v) як антиоксидант використовують метабісульфіт натрію; на стадії (vii) як корегент рН використовують фосфорну кислоту, здійснюють контроль рН 2,7-4,7, осмоляльність доводять до 270-330 мОсмоль.



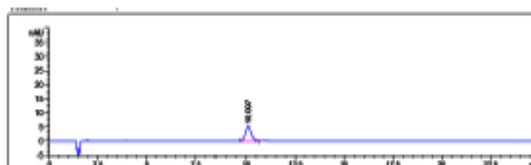
Фіг. 1



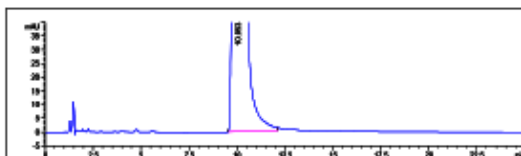
Фіг. 2



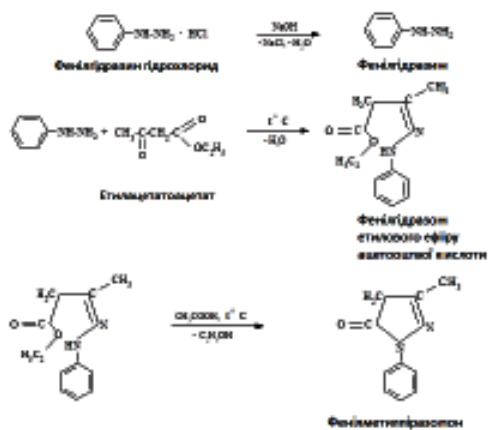
Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6