

(11) Patent numeris: **3257**

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>: **C07D 271/04,  
C07D 295/30,  
A61K 31/41,  
C08B 37/16**

(21) Paraiškos numeris: **IP387**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 03 05**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 09 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1995 05 25**

(60) SU duomenys: **PCT/HU 91/00013, 1991 03 28 SU 5010582, 1991 11 27**

(31,32,33) Prioritetas: **18 69/90, 1990 03 28, HU 18 69/90, 1990 06 27, HU**

(72) Išradėjas:

**Maria Vikmon, HU  
Jozsef Szejtli, HU  
Lajos Szente, HU  
Jozsef Gaal, HU  
Istvan Hermecz, HU  
Agnes Horvath, HU  
Katalin Marmarosi, HU  
Gabor Horvath, HU  
Iren Munkacsi, HU**

(73) Patent savininkas:

**CHINOIN GYOGYSZER-ES VEGYESZETI TERMEKEK GYARA RT, To utca 1-5, H-1045  
Budapest IV, HU**

(74) Patentinis patikėtinis:

**Rita Laurinavičiūtė, 5, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT**

---

(54) Pavadinimas:

**3-Morfolinsidnonimino arba jo druskų, ar jo tautomerinio izomero įjungimo kompleksai, jų gavimas ir farmacinės kompozicijos jų pagrindu**

(57) Referatas:

Išradimas susijęs su 3-morfolinosidnonimino arba jo druskų, arba jo tautomerinių izomerų įjungimo kompleksų gavimo būdu, o taip pat ir su farmacinėmis kompozicijomis, į kurių sudėtį įeina minėtieji įjungimo kompleksai.

3-morfolinosidnonimino arba jo druskos įjungimo kompleksai su ciklodekstrino dariniais yra pagaminti

a) reaguojant 3-morfolinosidnoniminui arba jo druskoms su ciklodekstrino dariniais vandeniniame tirpale ir išskiriant kompleksus iš tirpalo, pašalinant vandenį,

arba

b) labai energingai malant 3-morfolinosidnoniminą arba jo druską ir ciklodekstrino darinį.

Šis išradimas susijęs su 3-morfolinosidnonimino (SIN-1) arba jo drusku, arba jo tautomerinės "A" formos su atviru žiedu (SIN-1A: N-nitrozo-N-morfolinoaminoacetnitrilas) įjungimo kompleksais su ciklodekstrino dariniais, jų gavimo būdu, o taip pat ir su farmacinėmis kompozicijomis, į kurių sudėtį kaip aktyvūs komponentas įeina minėti įjungimo kompleksai.

Forma "A" su atviru žiedu vaidina svarbų vaidmenį, jos susidarymas vyrauja, išlaisvinant NO (azoto oksido) radikala.

Molzidominas (N-etoksikarbonil-3-morfolinosidnoniminas, SIN-10) yra gerai žinoma priemonė, gydant stenokardiją. Jis plačiai taikomas terapijoje, gydant angiospazmus, o taip pat ir jų profilaktikai, esant širdies nepakankamumui bei širdies infarktui. Molzidomino terapinį efektą galima priskirti pirmajam jo aktyviam metabolitui 3-morfolinosidnoniminui, kuris daugiausia generuojamas kepenyse fermentinės hidrolizės išdavoje ir vėliau veikiant fermentui dekarboksilazei. Tokiu būdu, SIN-1 pasižymi terapiniais privalumais, taip pat lyginant ir su molzidominu, tai yra, jo efektas pasiekiamas greičiau ir yra labiau apibrėžtas.

Jo trūkumas yra tas, kad jis yra naudojamas tik intraveninėms injekcijoms.

Sidnonimino dariniai yra nepaprastai jautrūs šviesos poveikiui. Netgi trumpą laiką apšvitinus juos dirbtine ar natūralia šviesa, jie greitai skyla. Fotolizės procese susidaro farmakologiškai neaktyvūs, bet nekenksmingi skilimo produktai, būtent morfolinas, amoniakas, etanolis, anglies dioksidas. Kai kurių patentų tikslas yra sidnonimino darinių fotostabilizacija, įvedant įvairius priedus. (Išradimo aprašymas Europatentui Nr. 206219 ir CFR Nr. 3 346 638).

Neigiamo fotojautrumo efekto galima išvengti, laikant sausą medžiagą arba tirpalus atitinkamose sąlygose (sandariai uždarytoje tamsioje kolboje, apsuktoje juodu popieriumi).

Sidnonimino dariniai yra jautrūs ekstremalioms pH reikšmėms ir greitai skyla. Galutinis cheminio ir metabolitinio molzidomino skilimo produktas yra neaktyvus metabolitas SIN-1C (cianometilenaminomorfolinas). Panaudojant medikamentu SIN-1, išskyla cheminio stabilumo problemos. Medžiaga greitai skyla neutraliame vandeniniame tirpale, yra jautri pH reikšmei ir yra stabili tik stipriai rūgštinėje terpėje (pH 1-2). Esant reikšmei aukštesnei negu 2 pH, ji greitai skyla iki neaktyvaus metabolito SIN-1C, kas susiję su terapinio aktyvumo praradimu. Transformacija SIN-1 → SIN-1C yra bazėmis katalizuojamo katalitinio skilimo rezultatas. Procesas labai priklauso nuo pH reikšmės, tai yra tam, kad skilimo lapsnis pasiektų 10% (SIN-1C), reikia 53 sekundžių, esant pH 8; 15 valandų, esant pH 6; 67 dienų, esant pH 4 ir 13 metų, esant pH 1-2 (Chem. Pharm. Bull. 19/6, 1079, 1971).

SIN-1 jau per 1-3 dienas suskyla taip pat ir praskiestame vandeniniame tirpale, laikant jį išsklaidytoje šviesoje. Skilimą galima tiesiogiai stebėti remiantis UV-spektrais. Absorbcijos maksimumas palaipsniui slenka nuo  $291 \pm 1$  nm iki  $278 \pm 1$  nm, kai tuo tarpu absorbcijos dydis nuolat auga, kas atitinka literatūrinius duomenis:  $\lambda_{\max}$  SIN-1 atveju yra  $291 \pm 1$  nm, santykinis absorbcijos koeficientas  $A^{1\%} = 520$ , kai tuo tarpu SIN-1C  $\lambda_{\max}$   $278 \pm 1$  nm, jo moliarinis absorbcijos koeficientas  $\epsilon = 17\,000$   $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 1\,220$ .

Peroralinio įvedimo atveju, SIN 1 yra neefektyvus, esant pH 1-2, jis yra stipriai jonizuotoje formoje,

- kuri yra pranašesnė cheminio stabilumo prasme, bet, iš kitos pusės, yra nepalanki rezorbcijai iš skrandžio-žarnyno trakto. Remiantis aukščiau išdėstytais faktais, esant didesnėms pH reikšmėms, judant SIN-1 iš žarnyno jis greitai virsta neaktyviu metabolitu SIN-1C. Toki virtimą skatina mažos SIN-1 dozės, kadangi, esant mažoms koncentracijoms ( $\mu\text{g/ml}$  eilės), hidrolitinis skilimas yra labiau išreikštas.
- 10 SIN-1 parduodamas hidrochlorido pavidalu, intraveniniam naudojimui - ampulių su liofilizuotais milteliais, turinčiais po 2 mg aktyvaus ingrediento ir 40 mg sorbito, pavidalu. Prieš naudojant, ampulės turinį reikia išstirpinti 1 ml distiliuoto vandens. Šio išradimo
- 15 tikslas yra tokio naujo agento gavimas, kurio pagalba galima apsunkinti transformaciją  $\text{SIN-1} \rightarrow \text{SIN-1C}$  netgi neutraliame vandeniniame tirpale ir, atitinkamai, esant fiziologinėms pH reikšmėms.
- 20 Yra žinoma, kad komplekso su dekstrinu sudarymas yra tinkamas būdas įvairių agentų stabilizavimui šilumos ir šviesos poveikio atžvilgiu, o taip pat ir bazinės arba rūgštinės hidrolizės atžvilgiu (Sreijty: Cyclodextrin Technology. Kluwer, Dordrecht, 1988, pp. 211-217).
- 25 Tyrimo eigoje mes nustatėme, kad ciklodekstrinai patys savaime efektyviai stabilizuoja praskiestus vandeninius tirpalus, gautus iš injekcijoms skirtų kompozicijų, turinčių SIN-1.
- 30 Sąveikos tarp SIN-1 ir ciklodekstrino buvimas buvo patvirtintas tokia tyrimų eiga:
- 35 Iš injekcijoms skirtų kompozicijų, turinčių SIN-1, paruošė maždaug  $10 \mu\text{g/ml}$  koncentracijos tirpalą, ir gautuose tirpaluose maišant tirpino 20-40 mg ciklodekstrino arba jo darinio.

Tirpalus laikė kambario temperatūroje (20-22°C), esant išsklaidytam apšvietimui, ir tam tikrais laiko tarpais (kasdien) užrašydavo tirpalų UV-spektrus 220-350 nm bangų ilgių intervale. Kontrolei, atitinkamai, naudojo tik vandenį ir vandeninį 0,05 n druskos rūgšties tirpalą. Tam, kad nustatytų, ar ciklodekstrinas ir, atitinkamai, jo dariniai iš esmės nekeičia vandens pH reikšmės, tikrino ciklodekstrinų tirpalų pH. Didesnės koncentracijos naudojamų ciklodekstrinų tirpalų pH skyrėsi nuo distiliuoto vandens pH tik  $\pm 0,2$  ribose. Mes nustatėme, kad UV-spektro poslinkį nuslopindavo CDPST, tirpaus joninio  $\beta$ -ciklodekstrino polimero (vidutinė molekulinė masė 3 500,  $\beta$ -ciklodekstrino kiekis: 54% COO- kiekis: 4,2%) pridėjimas (Vengrijos patentas Nr. 181 101). Spektro poslinkis nebuvo užfiksuotas, netgi išlaikius 2 savaites, tuo tarpu kai analogiškose sąlygose laikomi vandeniniai tirpalai praktiškai pilnai virsdavo SIN-1C per 2-3 dienas.

Taip pat yra aiškiai išreikštas ir sulétinantis, skilimą stabdantis dimebo efektas (DIMEB = 2,6-di-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrinas). Esant 20 mg/ml dimebo, tirpalo, išlaikius jį 6 dienas, spektre buvo užfiksuotas poslinkis, lygus tik maždaug 1 mm. Taip pat ištirtas ir trimebo (TRIMEB = 2,3,6-tri-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrinas),  $\gamma$ -CD,  $\beta$ -CD ir hidroksipropil- $\beta$ -CD stabilizuojantis efektas. Efektyvumo eilė, išvesta pagal UV-spektro poslinkių dydžius, atrodo taip:

CDPSI >> dimeb > trimeb >  $\beta$ -CD  $\geq$  HP- $\beta$ -CD.

Įvertinus įvairių ciklodekstrinų poveikį hidrolitiniam SIN-1 ir, konkrečiai, CDPSI skaidymui, galima padaryti išvadą apie kompleksinės tarpusavio sąveikos egzistavimą.

Aukščiau aprašytoje bandymų serijoje ciklodekstrinai ir, atitinkami, jų dariniai buvo naudojami, esant dideliam jų pertekliui (10 µg/ml SIN-1 ir ~ 20 mg/ml ciklodekstrino).

5

Bandymų seka buvo pakartota ta pačia tvarka, tačiau buvo paimtas tik 10-kartinis ir 20-kartinis CDPSI perteklius, kas atitiko svorio santykį SIN-1 : CDPSI komplekse, turinčiame, atitinkamai, 10% ir 5% aktyvaus ingrediento. Maža SIN-1 terapinė dozė leidžia panaudoti mažiau kaip 5% aktyvaus ingrediento turintį kompleksą, kas atitinka molinį santykį SIN-1 : CDPSI = 1 : 2. Tokiame koncentracijų diapazone stochiometrinis matavimas neduoda aiškaus vaizdo, todėl skilimo lapsnis buvo nustatomas plonasluoksnės chromatografijos metodu tokiu būdu:

10 µl tirpalo porciją sulašino ant silikagelio plokštelės Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (10x10 cm, firma Merck). Eliuentas - cikloheksanas: etilacetatas santykiu 1:1. Vonia su tirpiklių mišiniu laikydavo 30 min. tam, kad pasiektų prisotinimą. Ant plokštelės sulašino ir etalono tirpalą. Užnešus dėmę ant plokštelės, plokštelę, saugant ją nuo šviesos, džiovino šalto oro srovėje ir laikė įmerkę tol, kol judri fazė pakilo į 15 cm aukštį. Vonia su tirpikliais visą laiką buvo tamsioje vietoje. Nugarinus nuo plokštelės tirpiklį, ją vizualiai tyrė UV-šviesoje, kurios bangos ilgis 254 nm. SIN-1 pasirodė, esant R<sub>f</sub> 0,05, o SIN-1C - esant R<sub>f</sub> 0,36. Kiekvienu atveju mes pastebėjome, kad tirpaluose, turinčiuose CDPSI, SIN-1 dėmės intensyvumas vizualiai buvo mažesnis, negu vandeniniuose tirpaluose.

Kadangi SIN-1 virtimas neaktyviu metabolitu žymia dalimi priklauso nuo pH reikšmės dydžio, matavimai buvo atliekami, remiantis farmakopėja, fosfatiniuose buferiuose, kurių pH 6,4, 7,0 ir 7,6. Kiekvienu atveju

lygino buferį ir buferinius tirpalus, turinčius 20 mg/ml CDPSI. Visi jie buvo tiriama UV-spektrofotometriškai, prieš tai atitinkamai praskiedus vandens-alkoholio mišiniu. Plonasluoksnės chromatografijos pagalba buvo tiriamas SIN-1 skilimo produkto intensyvumas.

Spektrofotometrinių matavimų rezultatai pateikti 1 lentelėje.

10

### 1 Lentelė

$\lambda_{\max}$  pokyčio priklausomybė nuo laiko  
(1 mg/ml SIN-1 + 20 mg/ml CDPSI)

15

| laikas (dienos) | $\lambda_{\max}$ |       |                 |       |                 |       |
|-----------------|------------------|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
|                 | pH 6,4           |       | pH 7,0          |       | pH 7,6          |       |
|                 | buferis + CDPSI  |       | buferis + CDPSI |       | buferis + CDPSI |       |
| po paruošimo    |                  |       |                 |       |                 |       |
| 0               | 291,5            | 291,9 | 290,6           | 291,0 | 291,2           | 290,9 |
| 1               | 289,0            | 290,5 | 280,4           | 285,5 | 276,4           | 278,8 |
| 4               | 284,9            | 288,5 | -               | -     | -               | -     |
| 6               | 279,8            | 283,9 | 277,3           | 278,8 | 277,6           | 277,9 |

Maksimalios bangos ilgio reikšmės sumažėjimas maždaug 13 nm (nuo 291 nm iki 278 nm) atitinka pilną SIN-1 skilimą iki SIN-1C.

20

Buferyje, kurio pH 6,4, esant CDPSI, netgi praėjus 6 dienoms,  $\Delta\lambda = 7$  nm, kai tuo tarpu kontrolinis dydis  $\Delta\lambda = 12$  nm. UV-Maksimumo atsikartojimas šiomis sąlygomis buvo  $\pm 0,5$  nm ribose ir, tokiu būdu, skirtumą galima laikyti esminiu. Praėjus vienai dienai, skirtumą  $\Delta\lambda$  vis dar galima buvo išmatuoti, priešingai, esant pH 7,6, stabilizuojantis CDPST efektas tik truputį dominuoja bent kiek ilgesnį laiko tarpą.

25



- Molinis santykis SIN-1 : CDPST tiriamuose tirpaluose buvo maždaug 1 : 2, kas sudaro būtiną minimumą kompleksų susidarymui tirpale. Stabilizuojantis CDPST efektas 10-kartinio pertekliaus tirpale (10 mg/ml) -
- 5 atitinkančio molinį santykį 1:1 - vargu ar pasireiškia. Skilimo laipsnį taip pat galima stebėti plonasluoksnės chromatografijos pagalba. Išryškintos SIN-1C dėmės, kurios  $R_f$  0,36, buferyje, kurio pH 6,4 atveju, intensyvumas žymiai skyrėsi netgi išlaikius savaitę
- 10 laiko. Buferiuose, kurių pH 7 ir 7,6, išlaikius 1 dieną, buvo stebimas esminis SIN-1 dėmės, kurios  $R_f$  0,04, skirtumas. Buferyje, kurio pH 7, vis dar buvo matomas nepakitęs SIN-1, tuo tarpu kai pH 7,6 jo nustatyti praktiškai nebuvo galima.
- 15 Disociacijos komplekso pusiausvyrą tirpale galima pastumti, pridėdant ciklodekstrino perteklių. Pridėjus labai didelį perteklių (1 000, 2 000 kartų), kompozicijos injekcijoms spektre buvo užfiksuotas tik
- 20  $\Delta\lambda + 1$  nm poslinkis, - išlaikius 1 savaitę distiliuotame vandenyje, kai tuo tarpu kontrolinis tirpalas praktiškai suskilo.
- Skilimo laipsnio kiekybiniai pokyčiai buvo atliekami
- 25 taip pat DESC (didelio efektyvumo skysčių chromatografija) metodu.

#### SIN-1 - SIN-1C atskyrimo DESC metodu sąlygos

Įranga: Tirpiklio padavimo modulis Beckman 114 M,  
Kintamo bangos ilgio detektorius 165,  
Integratorius Hewlett-Packard 3396A.

Kolonėlė: analitinė kolonėlė Ultraspher ODC  
4,6 x 150 nm  
5  $\mu$ m

Eliuentas: 0,05 M natrio acetato: 700 ml  
 acetonitrilo: 300 ml  
 tetrahidrofurano: 2 ml  
 lašėjimo greitis: 1,0 ml/min  
 slėgis: 120 bar  
 matavimo bangos ilgis: 278, 290 nm  
 pavyzdžio tūris: 20 μl  
 jautrumas: 0,1 AU  
 popieriaus judėjimo greitis: 0,5 cm/min  
 užlaikymo laikas:  $t_R$  SIN-1: 2,9 min.  
 $t_R$  SIN-1C: 4,2 min.

### Rezultatai:

1. SIN-1 tirpalai, kurių koncentracija fosfatiniame  
 5 buferyje 0,5 mg/ml, buvo laikomi kambario tempera-  
 tūroje, saugant juos nuo šviesos. Komplexo sudarymui,  
 pridėdavo 50 mg/ml (100-kartinis perteklius) CDPSI.  
 Išlaikius 5 savaites, užrašydavo DESC chromatogramas.

### 10 Chromatogramų analizė:

| Aktyvus ingredientas | kontrolė* | CDPSI - kompleksas |
|----------------------|-----------|--------------------|
| kiekis:              |           |                    |
| SIN-1                | 0,016     | 0,17               |
| SIN-1C               | 0,23      | 0,16               |

15 \* Pastaba: kontrolinių matavimų duomenys buvo  
 gauti, naudojant distiliuotą vandenį, o ne  
 buferį.

20 CDPSI, kuris įvedamas 100-kartiniu svorio pertekliumi  
 (moliniu santykiu maždaug 10:1), žymia dalimi apsunkina  
 SIN-1 skilimą. Gauti rezultatai atitinka plonasluoksnės  
 chromatografijos rezultatus.

2. Bandymai taip pat buvo atliekami fosfatiniame buferyje pH 7, esant analogiškoms koncentracijoms (0,5 mg/ml SIN-1 ir 50 mg/ml CDPSI).

5 Buvo tiriamos chromatogramos, gautos išlaikius 4 dienas.

**Chromatogramų analizė:**

| Aktyvus ingredientas | kontrolė* | CDPSI - kompleksas |
|----------------------|-----------|--------------------|
| SIN-1                | 0,041     | 0,23               |
| SIN-1C               | 0,125     | 0,064              |

10

Tirpalų pH reikšmės po laikymo:

Kontrolė: 6,57

CDPSI: 6,2

15

Galima sakyti, kad mums pavyko įrodyti, kad naudojamų koncentracijų ribose, netgi esant pH 7, CDPSI apsunkina SIN-1 virtimą SIN-1C, kuris yra neaktyvus metabolitas.

20 Toliau buvo atliekami bandymai, siekiant nustatyti SIN-1 injekcijų stabilumą praskiestame vandeniniame tirpale.

25 Paėmus iš ampulės liofilizuotus SIN-1 miltelius, buvo paruoštas vandeninis 50 g/ml koncentracijos tirpalas, o po to pridėta 20 mg/ml CDPST. Tirpalai buvo laikomi kambario temperatūroje, ir laikas nuo laiko buvo nustatomas juose esantis skilimo produkto SIN-1C kiekis.

30 Buvo analizuojamos chromatogramos, gautos po 1, 4 ir 11 dienų.

**Chromatogramų analizė:**

SIN-1C kiekis  $\mu\text{g/ml}$

| laikas (dienos) | kontrolė | kompleksas su CDPSI |
|-----------------|----------|---------------------|
| pradinis        | 0,1      | 0,1                 |
| 1 diena         | 0,8      | 0,6                 |
| 4 dienos        | 3,9      | 0,94                |
| 11 dienų        | 5,       | 1,                  |

5 Tokiu būdu, šio išradimo tikslas yra SIN-1 kompleksas su ciklodekstrino dariniu bei jo gavimas, kompleksas, stabilus vandeningoje sistemoje netgi prie organizmo pH, ir kurio virtimą neaktyviu metabolitu SIN-1C apsunkina ciklodekstrino darinio įvedimas.

10 Be to, SIN-1 kompleksai su ciklodekstrinais, ypač su CDPSI, po paruošimo turi žymų kiekį tarpinio junginio SIN-1A. Virsmų  $\text{SIN} \rightarrow \text{SIN-1A} \rightarrow \text{SIN-1C}$  procesas, esant ciklodekstrinams, taip pat buvo tiriamas 0,02 M acetatiniam buferyje, pH 5,5. Keista, bet labiausiai išreikštu pasirodė  $\beta$ -CD efektas, esant  $\beta$ -ciklodekstrinui, buvo nustatytas daugiau kaip 7 kartus didesnis, negu kontrolėje, SIN-1A kiekis (SIN-1A buvo nustatomas DESC metodu).

20 Pagal šį išradimą tiriant biologinį kompozicijų efektą, buvo nustatyta, kad peroraliai įvedamas 1mg/ml dozė SIN-1 nepasižymi aktyvumu (kardioapsauginis aktyvumas žiurkėms 11%), tuo tarpu kai kartu su šiuo ingredientu peroraliai dar įvedamas SIN-1 - CDPSI, kardioapsauginis aktyvumas siekia 42,2%.

30 Gerą biologinį komplekso SIN-1 - CDPSI aktyvumą po peroralinio įvedimo kardioapsauginio aktyvumo bandymuose galima priskirti SIN-1A buvimui kietame komplekse. "A" formos, kuri vaidina esminį vaidmenį biologinio efekto pasireiškinge, susidarymas neišmanomas, esant žarnyno pH, ji gali susidaryti iš junginio SIN-1 in-

vitro, tik palaikant šarminį pH. Tirpinant CDPSI-kompleksą distiliuotame vandenyje, gautame tirpale galima nustatyti žymų SIN-1A kiekį.

5 Matyt, SIN-1 virtimo SIN-1A promotoriai yra ciklodekstrinai, ir tuo pat metu labai nestabilių, jautrų deguonies poveikiui SIN-1A stabilizuoja komplekso susidarymas, kuris lėtina virsmą SIN-1A → SIN-1C.

10

Toliau esančioje lentelėje pateikiami SIN-1 kompleksų su įvairiais ciklodekstriniais, gautų pagal 2 pavyzdį, kiekiai, kurie buvo matuojami DESC pagalba iš karto po gavimo. Standartu buvo naudojamas tos pačios sudėties  
15 SIN-1 fizinis mišinys, paruoštas tokiu pat būdu su laktoze.

#### Lentelė

| (Pavyzdys)                 | SIN-1A, % kiekis                |
|----------------------------|---------------------------------|
| Kompleksas                 | (pateikiama SIN-1C ekvivalentu) |
| SIN-1 - CDPSI              | 1,27                            |
| SIN-1 - β-CD               | 0,08                            |
| SIN-1 - dimeb              | 0,06                            |
| SIN-1 - HP                 | 0,115                           |
| SIN-1 - laktozė = kontrolė | -                               |

20

#### Rezultatai ir išvados

SIN-1-ciklodekstrino ir normalaus SIN-1 kompleksu relaksuojančius efektus tyrė, esant koncentracijai 1  
25 arba 2μM.

Visi keturi kompleksai relaksavo ilgalaikį depoliarizuotų kalio sankaujų sumažėjimą maksimaliu 43-53% efektu. SIN-1 (1 μM) pasirodė besąs kiek labiau  
30 efektyviu - relaksacija 58%.

Maksimali reakcija SIN-1 kompleksams užregistruota intervale nuo 23 iki 32 minučių po panaudojimo, tuo tarpu kai T/max SIN-1 atveju pasireiškė po 18 minučių.

5 Šis skirtumas yra statistiškai reikšmingas. Veikimo trukmė, išmatuota kaip T/2, pasirodė besanti didesnė komplekso su ciklodekstrinu atveju (nuo 62 iki 83 min), negu SIN-1 atveju (47 min). Šis skirtumas taip pat pasirodė besąs statistiškai žymus. Tokiu būdu, SIN-1-

10 ciklodekstrino kompleksai parodė kur kas švelnesnę prigimtį ir ilgesnį veikimo laiką, negu kad normalus SIN-1.

Kadangi, kaip yra manoma, SIN-1 relaksuojantį efektą

15 apsprendžia azoto oksido išskyrimas oksidacinio skilimo proceso metu, galima padaryti išvadą apie skilimo proceso sulétinimą, susidarant SIN-1 kompleksams su ciklodekstrinais. Tokiu būdu, kur kas švelnesnę prigimtį ir ilgesnį veikimo laiką apsprendžia,

20 tikriausiai, sulétintas azoto oksido išsiskyrimas iš SIN-1-ciklodekstrino kompleksų.

Remiantis aukščiau pateiktais faktais, išradimas priskiriamas prie 3-morfolinosidnonimino arba jo druskų,

25 arba jo "A" formos tautomerinio izomero su atviru žiedu įjungimo kompleksų su ciklodekstrino dariniais.

Remiantis šiuo išradimu, įjungimo kompleksuose esančiais ciklodekstrino dariniais dažniausiai naudojami

30 joninis vandenyje tirpus ciklodekstrino polimeras (CDPSI) (molekulinis svoris < 10 000), heptakis-2,6-dimetil- $\beta$ -ciklodekstrinas (dimeb), heptakis-2,3,6-tri-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrinas (trimeb) ir  $\beta$ - arba  $\gamma$ -ciklodekstrinas.

35 Tam, kad gautų kietą įjungimo kompleksą, taip pat galima naudoti hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstriną.

- Remiantis šiuo išradimu, įjungimo kompleksai yra gaunami tirpiklyje sąveikaujant 3-morfolinosidnoniminui arba jo druskoms su ciklodekstrino dariniu. Esant reikalui, kompleksą iš tirpalo galima išskirti, pašalinant vandenį arba labai energingai malant 3-morfolinosidnonimino arba jo druskų ir ciklodekstrino darinio mišinį.
- 10 Kompleksą galima išskirti iš tirpalo liofilizacijos, purškiamojo džiovinimo, išgarinimo vakuume žemose temperatūrose ir vakuuminio džiovinimo būdu.
- 15 Kartu ištirpina SIN-1 ir 1-40 mmol CDPSI arba dimeb 1-500 ml distiliuoto vandens, kas yra paskaičiuota 1 mmol aktyvaus ingrediento, o po to pašalina vandenį, kaip jau buvo nurodyta aukščiau. Polimero CDPSI molinis santykis skaičiuojamas pagal  $\beta$ -CD. Tokiu būdu, įvedant polimerą, turintį 50%  $\beta$ -CD ir vidutinę molekulinę masę 20 3 500, komplekso, kurio santykis 1 : 1, sudėtis atitinka maždaug 8%, o molinis santykis 2 : 1 maždaug 4,5%. Komplekso sąveika tirpale pailiustruota prasiskverbimo pro membraną testu.
- 25 Buvo naudojama Visking tipo celofaninė membrana (vidutinis porų diametras 24 Å). Į donorinę celę patalpino vandeninį 1 mg/ml koncentracijos SIN-1 tirpalą, o aparato su membrana priimtuve buvo distiliuotas vanduo. Tirpalai maišomi magnetiniu maišikliu, palaikoma 30 37  $\pm$  1°C temperatūra. Tam tikrais laiko tarpais imdavo priimtuve esančio tirpalo mėginius ir UV-spektroskopijos pagalba matavo SIN-1, prasiskverbisio iš donorinės celės, koncentraciją.
- 35 Bandymai buvo kartojami, naudojant skirtingus ciklodekstrinus ir esant skirtingoms koncentracijoms donorinėje celėje.

Lentelėje pateikiami SIN-1 50%-tinei difuzijai reikalingi laiko tarpai, esant skirtingoms CDPSI koncentracijoms.

5

| SIN-1 difuzijos pusperiodis, esant CDPSI T50% (val.) |     |
|------------------------------------------------------|-----|
| SIN-1 atskirai                                       | 0,9 |
| + CDPSI 25 ml                                        | 3,5 |
| 50ml                                                 | 5,0 |

10

Remiantis šiuo išradimu gauti įjungimo kompleksai gali būti panaudoti farmacinių kompozicijų gamyboje, t. y. stabiliam jų panaudojimui injekcijų pavidalu, peroraliniam arba vietiniam naudojimui.

15

Remiantis šiuo išradimu, įjungimo kompleksų dozės gali keistis priklausomai nuo amžiaus, subjekto kūno svorio bei savigautos, vartojimo būdo bei dažnumo ir pan., bet svyruoja nuo 6 iki 800 mg į dieną, teikiant pirmenybę 10-400 mg į dieną.

20

Sulėtinto išsiskyrimo efektas vyrauja tada, kai farmacinė kompozicija naudojama tablečių, skirtų vartoti 1 kartą į dieną, mikrokapsulių ir tepalų, labai tinkančių įvedimui per odą, pavidalu. Remiantis šiuo išradimu, farmacines kompozicijas ruošia įprastu būdu. Naudoja įprastinius farmacinių preparatų paruošimui skirtus adjuvantus ir nešiklius.

25

Pateikiamo išradimo detales iliustruoja žemiau esantys pavyzdžiai, kuriais išradimas neapsiriboja.

#### **PAVYZDŽIAI**

30

**1. Komplexo SIN-1 - CDPSI gavimas liofilizacijos metodu**



200 ml distiliuoto vandens ištirpinto 15 g (6,6 mmol) CDPSI polimero, po to į tirpalą pridėjo 1,1 g (5,3 mmol) SIN-1-HCl. Medžiagos ištirpsta beveik akimirksniu, susidaro švarus, skaidrus tirpalas, kuri  
5 nedelsiant užšaldo ir pašalina vandenį liofilizacijos būdu, stebint, kad visų procesų eigoje medžiagą kiek galima mažiau veiktų šviesa.

Todėl rekomenduojama distiliacijos kubą apvynioti juodu popieriumi. Gautas produktas - labai šviesūs, purūs milteliai, spektrofotometrijos duomenimis turintys  $6,5 \pm 0,5$  % aktyvaus ingrediento, kas atitinka molinį santykį maždaug 1 : 1.

15 Testas, įrodantis komplekso susidarymą - termogravimetrija (TG), diferencialinė skenuojanti kalorimetrija (DSK) ir terminė analizė (TA), parodė, kad yra charakteringi skirtumai tarp SIN-1, esančio fiziniuose SIN-1 - CDPSI mišiniuose ir SIN-1 - CDPSI  
20 komplekse. 60-110°C temperatūrose iš aktyvaus agento pasišalina apie 8% neorganinės medžiagos, gali būti, kad tai vanduo.

Skilimas, lydant medžiagą, prasideda 170-180°C  
25 temperatūroje, vyksta su sprogitu, ir labai siaurame temperatūros intervale iš sistemos pasišalina 70% įvesto agento.

Skilimas sulėtėja 220-230°C temperatūrų intervale, iki  
30 350°C galima užregistruoti 87% svorio praradimą. Aktyvaus ingrediento, neįeinančio į komplekso sudėtį, identifikavimui galima pasinaudoti 190-200°C temperatūrų intervale DSK kreivėje esančiu pikų bei temperatūros kilimo kreivėje esančiu pikų 190°C  
35 temperatūroje, kuris netgi argono atmosferoje sukelia egzoterminį entalpijos pakitimą.

Fizinio mišinio STN-1 - CDPSI, šviežiai paruošto prieš atliekant matavimus, terminės analizės kreives galima nagrinėti kaip pradinių medžiagų kreivių visumą.

- 5      Komplexo kreivės parodo žymius skirtumus, lyginant su aukščiau paminėtomis; nurodytų SIN-1 skilimo pikų nėra, tai reiškia, kad SIN-1 iš tikrųjų sudaro įjungimo kompleksą su CDPSI.

10      **Miltelių rentgenogramos:**

Remiantis rentgenodifraktometrijos duomenimis, komplekso SIN-1 - CDPSI struktūra yra amorfinė. Charakteringi SIN-1 refleksai išnyksta. Yra žinoma amorfinė CDPSI struktūra. Analogiškai apdoroto SIN-1, bet be CDPSI, kristalizacijos laipsnis nors ir sumažėja, tačiau perėjimas į pilnai amorfinę struktūrą neišmanomas, atliekant vien tik liofilizaciją. Komplexo difraktogramoje nėra atspindžio pikų 2  $\Theta$ , priskiriamų silpnai kristalizuotai formai ir būdingų laisvam (nesurištam į kompleksą) SIN-1.

**2. Komplexo SIN-1 - CDPSI gavimas liofilizacijos būdu**

25      200 ml distiliuoto vandens ištirpinto 15 g CDPSI polimero (6,6 mmol) ( $\beta$ -CD) kiekis 53%,  $\text{COO}^-$  kiekis 4,2%). Gautame tirpale ištirpinto 0,7 g (3,3 mmol) SIN-1, po to tirpalas buvo apdorojamas pagal 1 pavyzdyje pateiktą metodiką.

30

Aktyvaus ingrediento kiekis gautame produkte buvo  $4,5 \pm 0,2\%$ , kas atitinka molinį santykį maždaug 1 : 2.

35      **3. SIN-1 - CDPSI komplekso su dideliu ir kontroliuojamu SIN-1A kiekiu gavimas**

5 Gautą produktą džiovino antrą kartą pagal metodiką, aprašytą 2 pavyzdyje tam, kad pašalinti iš kompleksą surištą vandenį. Produktą džiovino vakuume 60°C temperatūroje 3 val, (iki pastovaus svorio). Nuostoliai džiovinant:  $4,5 \pm 0,2\%$ .

10 Šildymo proceso metu SIN-1A kiekis išaugo maždaug 5 kartus, jis padidėjo nuo 1,08% iki 5,1%, be to, santykis SIN-1A/SIN-1C taip pat pasikeitė į gerąją pusę (nuo 10 iki 17). Laikant išdžiovintus kompleksus kambario temperatūroje apsaugotoje nuo šviesos vietoje daugiau kaip 3 mėnesius, SIN-1A kiekis ir santykis SIN-1A/SIN-1C praktiškai nepasikeitė.

15 Laikymo metu, kontroliniame (terminškai neapdorotame) pavyzdyje SIN-1A kiekis taip pat padidėjo nuo 1,08% iki 1,9%, tuo tarpu santykis SIN-1A/SIN-1C sumažėjo (pasikeitė nuo 10 iki 3).

20 Komplexą SIN-1 - CDPSI, į kuri įeina didelis SIN-1A kiekis ir kurio sudėtis yra kontroliuojama, galima gauti trumpą laiką terminškai apdorojant liofilizuotą SIN-1 - CDPSI kompleksą.

#### 25 **4. SIN-1 - dimeb komplekso gavimas**

30 14 g dimeb (10,3 mmol) (drėgnumas 2%) ištirpino 100 ml distiliuoto vandens. Maišant į tirpalą pridėjo 1,03 g (5 mmol) SIN-1. Gautą skaidrą tirpalą, apsaugotą nuo šviesos poveikio, apdorojo 1 pavyzdyje aprašytu būdu. Produktas - balti, purūs milteliai, turintys  $6,5 \pm 0,2\%$  aktyvaus ingrediento, kas atitinka molinį santykį SIN-1 : dimeb = 1 : 2.

35 **5. Tepalo, skirto naudojimui per odą, turinčio 10 mg SIN-1 ir 1/2 g tepalo, gavimas.**

151 mg SIN-1 - dimeb komplekso, gauto pagal 3 pavyzdyje aprašytą metodiką (aktyvaus ingrediento kiekis 6,5%) ištirpino 20 ml distiliuoto vandens. Į tirpalą, apsaugotą nuo šviesos poveikio, intensyviai maišant  
5 pridėjo 50 mg KLUCHEL-HP (hidroksipropilceliuliozės). Buvo gautas klampus, sunkiai maišomas tirpalas, kuris vieną dieną buvo laikomas kambario temperatūroje.

10 Susidarė skaidrus gelis, kurio 2 gramuose buvo 10 mg SIN-1.

**6. SIN-1 tabletės,** kurių kiekvienoje yra 2 mg aktyvaus ingrediento.

15 80 mg SIN-1 - CDPSI komplekso, turinčio 2,5% aktyvaus ingrediento

40 mg kukurūzų krakmolo

20 128 mg pieno cukraus

2 mg magnio stearato

25 Bendras tabletės svoris: 250 mg. Tabletės buvo paruoštos įprastu būdu, t. y. tiesioginiu presavimu.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba tauto-  
merinio izomero įjungimo kompleksas su ciklodekstrinu  
5 arba jo dariniais, pasižymintis biologiniu aktyvumu.
2. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba tauto-  
merinio izomero įjungimo kompleksas su joniniu tirpiu  
vandenyje ciklodekstrino polimeru, kurio molekulinė  
10 masė  $< 10000$ .
3. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba tauto-  
merinio izomero įjungimo kompleksas su hidroksipropil-  
 $\beta$ -ciklodekstrinu.  
15
4. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba  
tautomerinio izomero įjungimo kompleksas su heptakis-  
2,6-dimetil- $\beta$ -ciklodekstrinu.
- 20 5. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba  
tautomerinio izomero įjungimo kompleksas su heptakis-  
2,3,6-tri-O-metil- $\beta$  ciklodekstrinu.
- 25 6. 3-Morfolinosidnonimino arba jo druskos, arba  
tautomerinio izomero įjungimo kompleksas su  $\beta$ - arba  $\gamma$ -  
ciklodekstrinu.
- 30 7. 3-Morfolinosidnonimino įjungimo komplekso su  
ciklodekstrinu arba jo dariniais gavimo būdas, b e -  
s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima:  
  - a) 3-morfolinosidnonimino arba jo druskos sąveiką  
su ciklodekstrinu arba jo dariniais vandeniniame  
tripale, ir komplekso išskyrimą iš tirpalo,  
35 pašalinant vandenį arba;

b) labai energingą 3-morfolinosidnonimino arba jo druskos mišinio malimą su ciklodekstrinu arba jo dariniais.

5 8. Būdas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s  
tuo, kad kaip ciklodekstrino darinys yra naudojamas  
joninis vandenyje tirpus ciklodekstrino polimeras  
(molekulinė masė < 10000), hidroksipropilciklodeks-  
trinas, heptakis-2,6-O-dimetil- $\beta$ -ciklodekstrinas, hep-  
10 takis-2,3,6-tri-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrinas arba  $\beta$ -  
ciklodekstrinas.

9. Būdas pagal 7 ir 8 punktus, b e s i s k i r i a n -  
t i s tuo, kad 3-morfolinosidnonimino arba jo druskos,  
15 arba tautomerinio izomero įjungimo kompleksą su  
ciklodekstrinu išskiria liofilizacijos, purškiamojo  
džiovinimo, vakuuminio koncentravimo žemose  
temperatūrose ir vakuuminio džiovinimo būdais.

20 10. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i  
tuo, kad aktyviu ingredientu joje yra 3-morfolino-  
sidnonimino arba jo druskos, arba jo tautomerinio  
izomero įjungimo kompleksas su ciklodekstrinu arba jo  
dariniais ir įprasti farmacijoje nešikliai bei priedai.

25 11. Farmacinė kompozicija pagal 10 punktą, b e s i s -  
k i r i a n t i tuo, kad ją ruošia peroraliniam  
vartojimui.

30 12. Farmacinė kompozicija pagal 10 punktą, b e s i s -  
k i r i a n t i tuo, kad naudojamas ciklodekstrino  
darinys yra joninis vandenyje tirpus polimeras (mole-  
kulinė masė < 10000); hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrinas,  
heptakis-2,6-O-dimetil- $\beta$ -ciklodekstrinas, heptakis-2,3,  
35 6-tri-O-metil- $\beta$ -ciklodekstrinas,  $\beta$ - arba  $\gamma$ -ciklodeks-  
trinas.

13. Farmacinės kompozicijos gavimo būdas, b e s i s -  
k i r i a n t i s tuo, kad 3-morfolinosidnonimino  
arba jo druskos, arba jo tautomerinio izomero įjungimo  
kompleksą su ciklodekstrinu arba jo dariniais maišo su  
5 įprastais farmacijoje nešikliais arba kitais priedais.