

(19)



(10) **LT 3987 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: **3987**

(51) Int. Cl.⁵: **C12N 15/20**
A61K 37/66

(21) Paraiškos numeris: **IP2016**

(22) Paraiškos padavimo data: **1994 07 29**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1996 02 26**

(45) Patento paskelbimo data: **1996 06 25**

(31, 32, 33) Prioritetas: **53, 1992 02 17, LT**

(72) Išradėjas:

Vladas-Algirdas Bumelis, LT
Eugenijus-Arvydas Janulaitis, LT
Mykolas Mauricas, LT
Kostas Radzevičius, LT

(73) Patento savininkas:

Biotechnologijos institutas "FERMENTAS", V. Graičiūno g. 8, 2028 Vilnius, LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Liudmila Gerasimovič, 9, J. Basanavičiaus g. 16/5-41, 2009 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Stabilizuotos interferono kompozicijos

(57) Referatas:

Išradimas skirtas interferoną turinčioms kompozicijoms pagaminti ir kurios išlaiko savo biologinį aktyvumą ne mažiau kaip du metus. Tokios kompozicijos gali būti naudojamos kaip vaistai prieš daugelį virusinių infekcijų ir pan.

Siūlomos kompozicijos turi 1×10^6 - $6,6 \times 10^6$ TV interferono, pvz., 1×10^6 - $6,6 \times 10^6$ TV α - interferono, o kaip stabilizuojantį agentą turi 5-30 mg poliglikino kiekvienam ml vaistinės formos tirpalo fosfato-druskos buferinėje sistemoje, kurios pH 7,0 - 7,6.

Išradimas apima interferoną turinčias kompozicijas, kurios ilgai išlaiko savo biologinį aktyvumą, ir kurios gali būti naudojamos kaip vaistai, pvz., prieš daugelį virusinių infekcijų, ypač paruošiant tirpalus injekcijoms, intranazalinius aerozolius ir lašus, t.tarpe akims ir pan.

Siekiant išvengti galimus pašalinius efektus ir užtikrinti stebimų gydomųjų efektų atsikartojimą yra pageidautina naudoti interferonus, pasižyminčius aukštu specifiniu aktyvumu. Tačiau yra gerai žinoma, kad aukšto specifinio aktyvumo interferonų tirpalai yra nestabilūs biologiškai, būtent tas apsunkina biologiškai stabilų vaistinių formų, skirtų klinikiniam naudojimui, sukūrimą.

Yra žinoma, kad sudarant interferonų vaistines formas, gali būti naudojami tokie biologinį aktyvumą stabilizuojantys komponentai : žmogaus albuminas (EP 0133767, A61K 45/02, 1984), cukrai (gliukozė, manozė, galaktozė, fruktozė, sacharozė ir kt.) (EP 0133767, A61K 45/02, 1984); dekstranai ir hidroksietilkrakmolas (EP 0150067 A61K 45/02, 1985); polietilenglikolis ir hidroksietilceliuliozė (EP 0152345, A61K 45/02, 1985); polikarboninės rūgštys (metilmetakrilato ir maleino rūgšties kopolimerai, karboksietilceliuliozės Na druska, ksilitas (DE 3642223, A61K 45/02, 1988).

Naudojant žmogaus albuminą interferonų vaistinių formų stabilizavimui yra būtina papildomai kontroliuoti gautas vaistines formas ir įsitikinti, kad nepateko hepatito B ir AIDS virusai. Be to, žmogaus albumino panaudojimą riboja žaliavos - donorinio kraujo trūkumas.

Artimiausia siūlomai pagal biologinio stabilumo palaikymo efektą yra liofilizuota farmacinė kompozicija, kuri ištirpinama steriliame vandenyje ir kurios sudėtyje yra stabilizatorių - aminorūgščių ir jų darinių (glicinas, α -alaninas), o taip pat - žmogaus albumino (EP 0082481, A61K 45/02, 1982; US 4 496 537, A61K 45/02, 1983).

Tačiau ši žinoma kompozicija savo biologinį aktyvumą išlaikydavo, iš esmės, tik 6 mėnesius. Be to, šios kompozicijos sudėtyje panaudojamas žmogaus albuminas, nors ir mažesniais, negu paprastai buvo naudojama, kiekiais.

Šio išradimo tikslas yra prailginti laiką, kurio metu kompozicija, turinti interferono, išlaiko savo biologinį aktyvumą, kartu nenaudojant žmogaus albumino vaistinės formos stabilizavimui.

Šis tikslas išradime pasiekiamas, naudojant poligliukina interferono kompozicijos sudėtyje ir buferinę sistemą, tinkamą palaikyti pH vaistinės formos tirpaluose, geriausiai intervale 7,0-7,6.

Poligliukinas (Polyglucinum) (Государственная фармакопея X, str. 545) išradime naudojamas biologiniam aktyvumui stabilizuoti, yra vidutinės molekulinės frakcijos (60000 ± 10000 D), dalinai hidrolizuoto dekstrano tirpalas izotoniniame 0,9 % natrio chlorido tirpale. Poligliukinas gaunamas hidrolizinant natyvų dekstraną, gautą iš sacharozės, panaudojant Leuconostoc mesenteroides kamieną CФ-4. Poligliukino koncentracija tirpale 5,5-6,5 % .

Išradimas apima interferoną turinčias kompozicijas, kurios ilgai išlaiko savo biologinį aktyvumą, ir kurios gali būti naudojamos kaip vaistai, pvz., prieš daugelį virusinių infekcijų, ypač paruošiant tirpalus injekcijoms, intranazalinius aerozolius ir lašus, t.tarpe akims ir pan.

Žmogaus interferonas, naudojamas siūlomose kompozicijose, gali būti α -interferonas arba γ -interferonas.

Interferonų biologinis aktyvumas buvo nustatomas žmogaus odos-raumenų audinių persėjamos ląstelių linijos kultūroje prieš vezikuliarinio stomatito virusą.

Mūsų duomenimis, poligliukinas nebuvo anksčiau naudojamas, kad pratęsti laiką, per kurį interferonų kompozicijos nepakeičia biologinio aktyvumo. Panašios kilmės medžiagų, tokių kaip dekstranas (MM 10000-100000 D) panaudojimas yra žinomas, bet tik γ -interferono kompozicijose ir kartu su hidroksietilkrakmolu. Bet šiomis priemonėmis pasiekiamas biologinio aktyvumo išsaugojimo terminas yra ne daugiau 2-jų savaitių 40°C. Tokiu būdu galima teigti, kad išradimas nėra akivaizdus šios srities specialistams.

Išradimo realizavimo galimybė iliustruojama šiais pavyzdžiais:

1 Pavyzdys. /Kompozicijos paruošimo metodika/

Į 1000 ml talpos indą įpilama 250-500 ml vandens injekcijoms ir pridedamas reikiamas natrio chlorido kiekis. Turinys išmaišomas. Į gautą tirpalą pridedami toliau suminėti natrio fosfatai, maišoma kol pilnai ištirpsta druskos, ir pridedamas poligliukino 6 % tirpalas. Toliau tirpalo pH reguliuojamas, pridedant fosforo rūgšties arba natrio šarmo. Į gautą tirpalą pilamas interferono tirpalas, turis subalansuojamas iki 1000 ml, koreguojant pH fosforo rūgštimi arba natrio šarmu ir skiedžiant vandeniu injekcijoms.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

α -2 interferonas (BFC 42-226 BC-89)	1x10 ⁹ TV
Natrio chloridas (ГФ X str. 426)	8.5 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2,8 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas (TY 6-09-01-584-79)	0.38 g
Poligliukino 6 % tirpalas (ГФ X str. 545)	84 ml
NaOH arba H ₃ PO ₄	iki pH 7.0
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

Toliau pateiktų pavyzdžių metodika yra analogiška
1 pavyzdžiui.

2 Pavyzdys.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

γ -interferonas	1,3x10 ⁹ TV
Natrio chloridas (ГФ X str. 426)	9.05 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2.74 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas (TY 6-09-01-584-79)	0.36 g
Poligliukino 6 % tirpalas (ГФ X str. 545)	500 ml
NaOH arba H ₃ PO ₄	iki pH 7.6
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

3 Pavyzdys.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

α -2 interferonas	3,2x10 ⁹ TV
Natrio chloridas	8.5 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2.74 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas	0.36 g
Poligliukino 6 % tirpalas	170 ml
NaOH arba H ₃ PO ₄	iki pH 7.0
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

4 Pavyzdys.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

α -2 interferonas	6,4x10 ⁹ TV
Natrio chloridas	9.0 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2.65 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas	0.35 g
Poligliukino 6 % tirpalas	500 ml
NaOH arba H ₃ PO ₄	iki pH 7.6
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

5 Pavyzdys.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

γ -interferonas	$3,1 \times 10^9$ TV
Natrio chloridas	9.0 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2.65 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas	0.35 g
Poligliukino 6 % tirpalas	500 ml
NaOH arba H_3PO_4	iki pH 7.6
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

6 Pavyzdys.

Liofiliniam džiovinimui paruošto tirpalo sudėtis
(1000 ml, po 1 ml vaistinėje formoje)

γ -interferonas	$6,6 \times 10^9$ TV
Natrio chloridas	9.0 g
Dinatrio-vandenilio ortofosfato dodekahidratas	2.80 g
Natrio-divandenilio ortofosfato dihidratas	0.38 g
Poligliukino 6 % tirpalas	500 ml
NaOH arba H_3PO_4	iki pH 7.6
Vanduo injekcijoms	iki 1000 ml

žmogaus interferonų vaistinių formų stabilumas laikant (temperatūra + 4 °C)
Lentelė

		Vaistinių formų biologinis aktyvumas*					
		α-2 interferonas			γ-interferonas		
		(1.0x10 ⁶ TV)	(3.2x10 ⁶ TV)	(6.4x10 ⁶ TV)	(1.3x10 ⁶ TV)	(3.1x10 ⁶ TV)	(6.4x10 ⁶ TV)
poliglikino kiekis, mg/ml	5.0		10.0	30.0	30.0	30.00	30.0
Laikymo terminas, mėnesiai							
Pradinis		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
1		94 %	103 %	112 %	98 %	105 %	109 %
3		101 %	93 %	89 %	113 %	94 %	110 %
6		108 %	112 %	103 %	102 %	120 %	94 %
9		91 %	91 %	120 %	117 %	93 %	101 %
12		111 %	115 %	101 %	102 %	114 %	102 %
18		101 %	120 %	113 %	104 %	107 %	93 %
24		97 %	102 %	94 %	98 %	104 %	114 %

* Vaistinių formų, turinčių β-interferoną, stabilumas yra tokio pat lygio.

Kaip matoma iš lentelės, žmogaus interferono vaistinių formų, turinčių poligliukiną kaip stabilizuojantį agentą, pagrindinis privalumas - tai, kad jų biologinis aktyvumas išlieka ne mažiau 2-jų metų. Laisva nuo albumino kompozicija leidžia nebekontroliuoti papildomai gautų vaistinių formų, norint įsitikinti, kad jose nėra hepatito B ir AIDS virusų ir pan.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Stabilizuotos interferono kompozicijos, b e s i s k i -
r i a n č i o s tuo, kad jos turi 1×10^6 - $6,6 \times 10^6$ TV
interferono, o kaip stabilizuojantį agentą turi 5-30 mg
poligliukino kiekvienam ml vaistinės formos tirpalo
buferinėje sistemoje, kurios pH 7,0-7,6.

2. Kompozicijos pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n č i o s
tuo, kad turi 1×10^6 - $6,4 \times 10^6$ TV žmogaus genoinženerinio
interferono α -2 ir 5-30 mg poligliukino kiekvienam ml
vaistinės formos buferinėje fosfatų druskos sistemoje, pH
7,0-7,6.