

(19)



(10) **LT 4167 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **4167**
- (51) Int. Cl.⁶: **C07D 295/30**
C08B 37/16
A61K 31/535
- (21) Paraiškos numeris: **95-133**
- (22) Paraiškos padavimo data: **1995 12 22**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1996 10 25**
- (45) Patent paskelbimo data: **1997 06 25**
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/HU95/00011**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1995 04 25**
- (85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1995 12 22**
- (31, 32, 33) Prioritetas: **P 94 01183, 1994 04 26, HU**
- (72) Išradėjas:
Joseph Geczy, BE
Andrasne Vikmon, HU
Jozsef Szejtli, HU
Lajos Szente, HU
Julianna Szeman, HU
- (73) Patent savininkas:
THERABEL INDUSTRIES S.A., ZE Les Playes - Jean Monnet, avenue de
Bruxelles 274, F-83500 LA SEYNE - SUR - MER, FR
- (74) Patentinis patikėtinis:
Liudmila Gerasimovič, 9, J. Basanavičiaus g. 16/5-41, 2009 Vilnius, LT
-

- (54) Pavadinimas:
N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo tarpiniai kompleksai su
ciklodekstrinais

- (57) Referatas:

Nauji kieti stabilūs tarpiniai kompleksai, kurie yra sudaryti iš N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo ir ciklodekstrinų ar ciklodekstrinų darinių ir savo sudėtyje kaip katalizatorių ar stabilizatorių fakultatyviai turintys

jonus. Kompleksai, ištirpinus vandenyje ar vandeninėse sistemose kambario temperatūroje, išskiria azoto oksidą. Jonai, pageidautina, yra karboksirūgšties anijonai, tokie kaip acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas, tartratas ir/arba laktatas, ir/arba neorganinės rūgšties anijonai, tokie kaip fosfatas, fosfitas, boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, sulfatas, sulfitas ir/arba katijonai, tokie kaip šarminio metalo ir/arba amonio.

Farmacinės kompozicijos bei rinkiniai savo sudėtyje turi kompleksus. Rinkiniai yra naudojami kaip NO atlaisvinimo standartai, išskiriant NO nustatytu kiekiu ir greičiu, ištirpinus vandeninėje terpėje.

Kompleksų gavimo būdai susideda iš to, kad 3-morfolino-sidnoniminas prie atitinkamo pH veikiamas katalizuojančiais jonais, norint pakeisti pusiausvyrą į N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo susidarymą, esant ciklodekstrinams ar ciklodekstrinų dariniams, galintiems sudaryti tarpinius kompleksus, todėl susidaręs N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilas nedelsiant kompleksinamas ir stabilizuojamas ir kietame pavidale išskiriami naujai gauti kompleksai, fakultatyviai turintys jonus.

Pateiktas būdas apima 3-morfolino-sidnonimino ir ciklodekstrino ar ciklodekstrino darinio reakciją kietame pavidale, dalyvaujant druskai kaip katalizatoriui, kruopščiai maišant ar sutrinant komponentus kartu arba šaldant-džiovinant vandeninį, neturintį deguonies komponentų tirpalą, po to, pageidautina, atliekant antrinį džiovinimą vakuume.

Išradimas apima fiziologiškai aktyvius azoto oksidą išskiriančius agentus, jų gavimo būdus, juos turinčias kompozicijas bei jų panaudojimo metodus.

5

Detaliau išradimas liečia naujus SIN-1A su intarpu kompleksus, kurie yra stabilūs, būdami kietame pavidale ir kurie sudaromi su ciklodekstrinais ar ciklodekstrinų dariniais ir kurie išskiria azoto oksidą kambario temperatūroje, ištirpinus vandenyje ar vandens sistemose, ir kurie taip pat fakultatyviai savo sudėtyje turi katalizuojančius arba stabilizuojančius jonus. Išradimas taip pat apima jų paruošimo būdus, juos turinčias kompozicijas bei jų panaudojimo metodus.

15

Šiame aprašyme panaudoti sekantys sutrumpinimai:

SIN-1	3-morfolino-sidnoniminas
SIN-1A	N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilas
SIN-1C	cianometilen-amino-morfolinas
20 CDPSI	joninis tirpus β -ciklodekstrino polimeras
DIMEB	heptakis-2,6-di-o-metil- β -ciklodekstrinas
EDRF	endotelinės kilmės atlaisvinantis faktorius
HP β CD	hidroksipropil- β -ciklodekstrinas, $\approx 2,8$ hidroksipropilo grupių pagal CD-vienetui (vidurkis)
25 Molsidominas	N-etoksikarbonil-3-morfolino-sidnoniminas
RAMEB	atsitiktinai metilintas- β CD, ≈ 12 metoksi grupių CD-vienetui (vidurkis)
TRIMEB	heptakis-2,3,6-tri-o-metil- β -ciklodekst-
30 rinas	

Žinoma, jog azoto monoksidas gali turėti redukuotą formą ($\text{NO}^\cdot$), vadinamą azoto oksidu, ir oksiduotą formą (NO^+), vadinamą nitrozo jonu. Azoto oksidas ($\text{NO}^\cdot$)

- dalyvauja daugelyje svarbių bioregulatorinių procesų. Donoro, išskiriančio NO, naudingumas priklauso nuo arterinį spaudimą mažinančio efekto vidurkio masto ir trukmės. Reikalingi ilgiau veikiantys NO-donorai, kurie
- 5 išskiria NO, nevykstant donorų metabolitinei transformacijai, t.y., kurie nėra priklausomi nuo kepenų funkcijų. Be to, NO-donoras turi turėti tam tikrų lipofilinių savybių, kad sutrukdytų ląstelių membranoms sustiprinti savo veikimą numatytuose
- 10 organuose, audiniuose. Dėl to reliatyviai paprasti, neorganiniai junginiai šiam tikslui nėra tinkami. Produkto projektas gali būti įgyvendintas trimis skirtingais keliais:
- 15 a. NO-donoro vaistai-pirmtakai savo sudėtyje turi -NO-grupę, kuri išskiriama tiesiogiai metabolitinio proceso metu, arba atlikus enziminę hidrolizę, kurios metu pašalinama tam tikra apsauginė grupė. Šie procesai yra plačiai susiję su kepenimis (pav., Molsidominas).
- 20 Sidnonimino tipo vaistai-pirmtakai (pav., Molsidominas) priklauso nuo kepenų sugebėjimo pašalinti apsauginę etoksikarbonilo grupę nuo molekulės, kad gauti pirmiausia SIN-1, o po to (sekančiame, nuo pH priklausančiame procese, katalizuojamame OH⁻ jonų)
- 25 susidaro labai nestabilus SIN-1A, kuris, nepriklausomai nuo pH, spontaniškai skyla, išsilaisvinant NO.
- b. Azoto oksido aduktų ar kompleksų su įvairiais nukleofilais ruošimas.
- 30 Dažniausiai antrinio amino NO kompleksų sintezė yra sekanti: antrinis aminas, pav., bevandenis dietilaminas, ištirpinamas bevandeniame eteri, panaudojant sauso acetono-ledo vonią, iš sistemos pašalinamas deguonis ir pro eterio tirpalą 3 val.

leidžiamas sausas NO -78°C temperatūroje, pageidautina, esant aukštam slėgiui (100 psi).

Žinomo dietilamino ir azoto adukto $\text{Et}_2\text{-N-NH-(ONa)-N=O}$ (DEANO) gyvavimo pusperiodis sudaro apie 2 minutes, tuo
5 tarpu poliaminspermino (SPNO) su azoto oksidu produktas turi 39 minučių gyvavimo pusperiodį.

c. Vaistas-pirmtakas stabilizuojamas ciklodekstrino intarpo komplekso sudarymu, tuo tarpu NO išskiriamas
10 spontaniškai, esant fiziologinėms sąlygoms. Žinomas ciklodekstrino kompleksinis vaistas-pirmtakas yra stabilus kietame pavidale.

Žinoma, jog SIN-1 yra stabilus junginys kietame pavidale, tačiau jo atviros grandinės tautomerinė SIN-
15 1A forma yra ypatingai nestabili. Yra labai sunku išskirti geltoną, kristalinį produktą gryname pavidale ir jis gali būti laikomas tiksliai -80°C temperatūroje azoto atmosferoje. Fotolizės metu SIN-1A kietame pavidale greitai išskiria vieną molį NO, o vandeniniame
20 tirpale jis pereina į cianometilen-amino-morfoliną (SIN-1C) net tamsoje.

SIN-1 laikomas vaistu-pirmtaku, o SIN-1C biologiškai inaktyviu degradacijos produktu. Pusiausvyra tarp stabilaus SIN-1 ir aktyvaus SIN-1A (kuris yra tikrasis
25 vaistas) priklauso nuo aplinkinių faktorių (pH, temperatūros). Tačiau dėl ypatingo SIN-1A nestabilumo - ypač deguonies atžvilgiu- jis yra faktiškai trumpaamžis tarpinis junginys SIN-1 skilimo procese.

Šiuo metu SIN-1 parduodamas tiksliai intraveniniam
30 skyrimui ampulėse miltelių pavidale, prieš injekciją ampulių turinį reikia ištirpinti. SIN-1 vaisto-pirmtako peroralinis skyrimas yra neefektyvus, kadangi hidrolitinė stadija, reikalinga tam, kad susidarytų NO gaminanti SIN-1A forma, negali vykti, esant žemoms pH

reikšmėms, o prieš absorbciją ji greitai ir pilnai skyla į SIN-1C, esant aukštesniam pH skrandžio- žarnyno trakte.

Taip pat yra žinoma, jog SIN-1 gali būti
5 stabilizuojamas, sudarant CD kompleksą, o pusiausvyra
SIN-1→SIN-1A→SIN-1C gali keistis kompleksų sudarymo
su ciklodekstrinų dariniais dėka (publikuota paraiška
WO 91/14681. Parodyta, jog komplekso sudarymas su kai
kuriais CD dariniais inhibuoja SIN-1C susidarymą. Tokiu
10 būdu, stabilesni SIN-1/CDPSI kompleksai, įskaitant ir
turinčius padidintą SIN-1A kiekį (pasižymintys
biologiniu aktyvumu dėl didesnio NO išskyrimo), buvo
gauti trumpai termiškai apdorojant liofilizacijos būdu
gautą SIN-1/CDPSI kompleksą. Aprašytas pavyzdys su SIN-
15 1/DIMEB kompleksu. Šie CD dariniai yra pasiūlyti
farmaciniam vartojimui.

Ši paraiška mini SIN-1/CD kompleksus arba SIN-
1/laktozės mišinį su 4,5% (pagal svorį) SIN-1 kiekiu,
kur SIN-1A kiekis gautuose produktuose yra sekantis:

20	CDPSI komplekse	1.27%
	βCD komplekse	0.08%
	DIMEB komplekse	0.06%
	HPBCD komplekse	0.115%
	mišinyje su laktoze	0.00%

25 Praktiškai nėra parodyta, jog net tada, kai
kompleksinimo agentai pristatomi šalia CDPSI pagalba,
kuris, kaip nustatyta, yra efektyviausias kompleksinimo
agentas šiam tikslui, įvyksta pilna SIN-1 konversija į
SIN-1A.

30 Dar daugiau: CDPSI ir DIMEB iki šiol nėra aprobuoti
farmaciniam naudojimui. Tokiu būdu švaraus SIN-1A
stabilios prekinės formos gavimas nėra išspręsta
problema.

Kadangi SIN-1 gali būti taikomas tik intraveniniu būdu, jo vaistas-pirmtakas Molsidominas naudojamas širdies nepakankamumo pašalinimui peroraliniu būdu: Molsidominas enzimų pagalba kepenyse hidrolizinamas į
5 SIN-1.

Šio išradimo pagrindinis tikslas yra taip stabilizuoti NO-donorą SIN-1A, kad užtikrinti kompoziciją, kuri gali būti skiriama tiek peroraliniu, tiek parenteraliniu
10 būdu ir kurios nekenksmingumas yra patvirtintas pilna (net intravenine) toksikologine dokumentacija. Šiuo metu šį svarbiausią reikalavimą atitinka du ciklodekstrinų tipai: gammaCD ir HPβCD.

15 Nors CDPSI ir DIMEB stabilizuojantis poveikis į SIN-1A vandeniniuose tirpaluose yra žinomas, tačiau iš to neseka, jog šiuo atžvilgiu taip pat yra efektyvus nejoninis gammaCD, ypač dėl jo ertmės platesnio diametro. Puikus CDPSI stabilizuojantis efektas yra
20 priskiriamas jo polimerinei struktūrai, t.y., jungtinėms įvairių ciklodekstrino žiedų, pritvirtintų sferinėje kaimynystėje, sąveikoms.

Šio išradimo objektai yra nauji SIN-1A intarpų
25 kompleksai, kurie yra stabilūs kietame pavidale, sudaryti iš SIN-1A ir ciklodekstrinų ar ciklodekstrinų darinių ir išskiriantys azoto oksidą kambario temperatūroje, ištirpinus juos vandenyje ar vandeninėse sistemose, ir taip pat fakultatyviai turintys
30 katalizuojantį ar stabilizuojantį joną.

Geriausiu variante kaip katalizatorių ar stabilizatorių jie turi fiziologiškai priimtą anijoną, tokį kaip karboksirūgšties anijonai, pav., acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas,

tartratas, ir/arba laktatas ir/arba neorganinės rūgšties anijonai, tokie, kaip fosfatas, fosfitas, boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, sulfatas ir/arba sulfitas. Atrasta, jog šiam tikslui puikus anijonas yra acetatas. Anijonai gali būti pateikti druskų pavidalu, o atitinkami katijonai, pageidautina, gali būti amonio ar šarminių metalų jonai, tačiau lygiai taip pat gali būti naudojami kiti katijonai.

Kaip ciklodekstrino komponentą jie turi β CD, gammaCD arba α CD, ypač farmaciniam naudojimui. Jie taip pat gali turėti ciklodekstrino darinius, būtent, hidroksipropilintus ar metilintus ciklodekstrinus, tokius kaip HP β CD, DIMEB, RAMEB, TRIMEB ar CDPSI.

Kita išradimo ypatybė yra biologiškai aktyvios kompozicijos, turinčios kaip savo aktyvų ingredientą naujus SIN-1A/ciklodekstrino kompleksus kartu su pagalbiniais ir papildomais ingredientais, palengvinančiais jų panaudojimą. Tai apima, bet nėra ribojama farmacinėms kompozicijoms, kaip aktyvų ingredientą turinčioms SIN-1A intarpo kompleksus fakultatyviai su įprastomis pagalbinėmis ir papildomomis medžiagomis, naudojamomis farmacijoje peroraliniam, parenteraliniam ar kitokiam medicininiam taikymui. Pageidautina, jog formuluotės būtų miltelių formoje, kurie ištirpinami prieš pat naudojimą. Tokiu būdu, parenteralinės formuluotės yra, pageidautina, milteliai, ištirpinami prieš injekciją.

Pirmenybę turinčios yra tokios kompozicijos, kurios kaip aktyvų ingredientą turi SIN-1A intarpo kompleksus, kurie yra stabilūs savo kietame pavidale ir kurie yra sudaryti su β CD, gammaCD ar α CD ir turintys kaip katalizatorių ar stabilizatorių fiziologiškai priimtina anijoną, tokį kaip karboksirūgšties anijonai, apimant

acetatą, formiatą, propionatą, askorbinatą, tartratą ir /arba laktatą ir/arba neorganinės rūgšties anijonai, apimant fosfatą, fosfitą, boratą, karbonatą, hidrokarbonatą, sulfatą ir/arba sulfitą. Anijonai fakultatyviai gali būti savo druskų formoje, pav., amonio ar šarminių metalų druskų. Šiam tikslui geriausia druska yra amonio acetatas.

Sekantys šio išradimo objektai yra rinkiniai, naudotini kaip NO atlaisvinimo standartai, išskiriant NO numatytu kiekiu ir greičiu, ištirpinus vandeninėje terpėje, kurie kaip aktyvų ingredientą turi SIN-1A intarpo kompleksus, sutinkamai su šiuo išradimu.

Tai yra įmanoma, nes šis išradimas liečia gavimą ir stabilizaciją ypatingai labilaus SIN-1A, kuris, kai išlaisvinamas iš ciklodekstrino ertmės - net paprastai ištirpinus distiliuotame vandenyje - nedelsiant generuoja NO numatytu kiekiu ir greičiu, nereikalaujant jokio papildomo fermento ar sužadintojo.

Šis išradimas apima naujų SIN-1A intarpo kompleksų, kurie yra stabilūs savo kietame pavidale ir kurie yra sudaryti su ciklodekstrinais ar ciklodekstrinų dariniais, gavimo būdus, SIN-1 veikiant katalitiniais jonais tinkamose pH sąlygose, kad pakeisti pusiausvyrą į SIN-1A susidarymą, esant ciklodekstrinams ar ciklodekstrinų dariniams, sugebantiems sudaryti intarpo kompleksus, ko dėka susidaręs SIN-1A yra nedelsiant kompleksinamas ir stabilizuojamas, susidarant SIN-1A/ciklodekstrino intarpo kompleksams. Procesas apima gautą SIN-1A/CD kompleksą, fakultatyviai turinčių jonus, išskyrimą kietame pavidale. Jonai gali būti savo druskų pavidale.

Labiausiai išradimą atitinka būdas, reaguojant SIN-1 ir ciklodekstrinui ar ciklodekstrino dariniui kietame pavidale, pageidautina, esant katalizatoriui jonui jo

druskos pavidale, kruopščiai sumaišant arba sutrinant komponentus kartu. Kitas kelias, sutinkamai su išradimu, eina per vandeninio komponentų tirpalo, neturinčio deguonies, šaldymą-džiovinimą, pageidautina, 5 toliau sekant antriniam džiovinimui vakuume.

Kaip proceso katalizatorius, pageidautina, naudoti amonio ar šarminio metalo druskas, sudarytas su karboksirūgšties anijonais, tokiais kaip acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas, tartratas ir/arba 10 laktatas ir/arba neorganinės rūgšties anijonais, tokiais, kaip boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, fosfatas, fosfitas, sulfatas, ir/arba sulfitas. Naudojamos druskos gali turėti lakius anijonus ar katijonus, tokius kaip amonio ar karbonato jonai, kurie 15 dalinai ar pilnai pašalinami proceso metu.

Atliekant aukščiau minėtą procesą, reakciją geriau užbaigti prie pH reikšmių tarp 6-10 ir - kada vanduo naudojamas reakcijos terpe - taikyti antrinį džiovinimą 40-100°C temperatūroje, pageidautina, 50-70°C 20 temperatūroje.

Kaip matyti iš NO išskyrimo testų, SIN-1A/ciklodekstrino kompleksai nedelsiant gamina azoto oksidą, ištirpinus kietus kompleksus vandeninėse sistemose. Tokiu būdu, vienas iš kelių gauti 25 kontroliuojamos sudėties SIN-1A ciklodekstrino kompleksą (turintį žemiausią SIN-1C kiekį) susideda iš SIN-1 tautomerizacijos ir tuo pačiu metu susidariusio SIN-1A kompleksinimo kietame pavidale.

Situacija panaši, kai komplekso gavimas vyksta šaldant-džiovinant. Šiuo atveju antra džiovinimo stadija (po 30 liofilinimo) leidžia užtikrinti kieto katalitinio komplekso susidarymo sąlygas.

Kitas išradimo objektas glūdi gyvų ląstelių veikimo azoto oksidu metoduose. Tai apima, bet nesusiveda į nuo

azoto oksidų priklausančius žmonių ir gyvulių simptomus, panašius į stenokardijos ir išeminius širdies nepakankamumus, fiziologinę kraujo spaudimo kontrolę, trombocitų agregaciją, peristaltikos įtempimo mažinimo tarpininkavimą, penio erekciją ir kitus poveikius. Tai yra įvykdoma, skiriant pacientams, kuriems tai reikalinga, pageidautina, peroraliniam ar parenteraliniam vartojimui, efektyvų kiekį naujo SIN-1A intarpo komplekso, kuris yra stabilus kietame pavidale ir kuris yra sudarytas su ciklodekstrinais ar su ciklodekstrinų dariniais ir kuris kaip katalizatorių ar stabilizatorių turi mažiausiai vieną joną ir kuris, ištirpinus vandenyje ar vandeninėse sistemose, išskiria azoto oksidą kambario temperatūroje.

15

Veiksmingiausia yra kompleksų, sudarytų tarp SIN-1A ir β CD, gammaCD ar α CD, fakultatyviai turinčių karboksirūgšties anijonus, tokius kaip acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas, tartratas ir/arba laktatas ir/arba neorganinės rūgšties anijonus, tokius, kaip fosfatas, fosfitas, boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, sulfatas ir/ar sulfitas jų amonio ar šarminių metalų druskų formoje, paskyrimas.

25 Išradimas apima žmonių ar gyvulių nuo azoto oksido priklausomų simptomų reguliavimą, pacientui skiriant produktą, gautą SIN-1 kiekybinės konversijos į SIN-1A būdu, atliekamu joninės katalizės ir ciklodekstrinu stabilizuoto kieto būvio konversijos pagalba, kai dalyvaujantys ciklodekstrinas ar ciklodekstrino darinys nedelsiant gali sudaryti intarpo kompleksus. Pagrindiniai SIN-1A/CD kompleksų pranašumai, lyginant su SIN-1 ar kitais iki šiol žinomais NO-donorais, yra sekantys:

- stabilumas ilgą laiko periodą,
- veikimo greitis,
- padidintas gyvavimo pusperiodis,
- nepriklausomumas nuo kepenų,
- 5 -nepriklausomumas nuo pH,
- pagaliau didesnis sugebėjimas pasiekti savo objektus (audinius).

Turint stabilią kompoziciją, pasidaro įmanoma pradėti
10 naują etapą, naudojant azoto oksidą, kuris kai kurių autorių yra vadinamas "nelaukta nauja biochemijos superžvaigžde" (Chem.Eng.News Dec.1993.psl.26-38). Sekantys pavyzdžiai iliustruoja, bet neriboja išradimo.

15 I. CHEMINIAI PAVYZDŽIAI

I.1 pavyzdys

SIN-1A/gammaCD komplekso paruošimas

20

- 2 g gammaCD ir 0.8 g amonio acetato ištirpinama 25 ml distiliuoto vandens, veikiant ultragarsu. Iš tirpalo pašalinamas deguonis, leidžiant per jį helio dujas, po to ištirpinama 200 mg SIN-1 medžiagos. Tirpalas
25 nedelsiant šaldomas-džiovinamas, norint išskirti kompleksą kietame pavidale. Antras komplekso džiovinimas atliekamas 40-50°C temperatūroje 2 val., kad būtų beveik pilnai pašalintas vanduo. Tiek tirpalas, tiek medžiaga saugomi nuo šviesos poveikio.
- 30 Komplexas yra šviesiai geltoni milteliai. Išeiga: 2.6± 0.1 g. Nuostolis džiovinant yra mažiau 1%.

HPLC analizė: SIN-1 kiekis: nenustatyta

SIN-1A kiekis: 11.7± 0.2%

SIN-1C kiekis: $0.36 \pm 0.1\%$

Visuose pavyzdžiuose kartu nustatant SIN-1, SIN-1A ir SIN-1C, taikant HPLC, naudojamas sekantis metodas:

Kolonėlė: Ultrasferinė I.P. analitinė kolonėlė (Beckman-
5 Astec) 4.6x250 mm, dalelių dydis 5 μm .

Judri fazė: 0.01 M fosfatinis buferis pH=6.0 800 ml

tetrahidrofuranas 200 ml

natrio- 1- dodekansulfonatas 0.405 g/dm³

Joninė jėga: 0.05 gion/dm³ (koreguojama natrio sulfatu)

10 Srovės greitis: 1 ml/min., p=190 bar. Pavyzdžio tūris:
20 μl .

Nustatymo bangos ilgis:

- 230 nm BW: 6 (ref. 350 nm BW:80) SIN-1A ir SIN-1C
tarp 0-8 minučių

15 - 292 nm BW: 6 (ref. 400 nm BW:80) SIN-1 po 8 minučių

Užsilaikymo laikai: SIN-1 9.6 min.

SIN-1C 4.5 min.

SIN-1A 4.8 min.

Kalibravimui naudojami naujai paruošti SIN-1 ir SIN-1C
20 tirpalai, SIN-1A kiekis išreiškiamas SIN-1C
ekvivalentu.

I.2 pavyzdys

25 SIN-1A/ β CD komplekso paruošimas

16 g β CD (vandens kiekis 14%) ir 7 g amonio acetato
ištirpinama 1000 ml distiliuoto vandens, veikiant
ultragarsu. Iš tirpalo pašalinamas deguonis, leidžiant
30 per jį helio dujas, po to ištirpinama 3 g SIN-1
medžiagos. Kietas kompleksas išskiriamas nedelsiant
šaldant-džiovinant, o vanduo pašalinamas 40-50°C
temperatūroje. Tiek tirpalas, tiek medžiaga saugomi nuo

šviesos poveikio. Komplexas yra gelsvi labai purūs
milteliai. Išėiga: 20 ± 1 g. Nuostolis džiovinant $<1\%$.

HPLC analizė: SIN-1 kiekis: nenustatyta

SIN-1A kiekis: $12 \pm 1\%$

5 SIN-1C kiekis: $0.30 \pm 0.2\%$

I.3 pavyzdys

SIN-1A/HPBCD komplekso paruošimas

10

2 g HPBCD (DS=2.8) ir 0.8 g amonio acetato ištirpinama
25 ml distiliuoto vandens, veikiant ultragarsu.
Pašalinus deguonį, praleidžiant helio dujas,
ištirpinama 200 mg SIN-1. Kietas kompleksas išskiriamas
15 nedelsiant šaldant-džiovinant. Vanduo pašalinamas 40-
50°C temperatūroje. Tiek tirpalas, tiek medžiaga
saugomi nuo šviesos poveikio. Gaunama 2.8 ± 0.1 g SIN-
1A/HPBCD komplekso šviesiai geltonų miltelių pavidalu.
Nuostolis džiovinant $<1\%$.

20 HPLC analizė: SIN-1: nenustatyta

SIN-1A: $11.6 \pm 0.2\%$

SIN-1C: $0.36 \pm 0.1\%$

I.4 pavyzdys

25

SIN-1A/RAMEB komplekso paruošimas

2 g RAMEB (DS=1.8) ir 0.8 g amonio acetato ištirpinama
30 25 ml distiliuoto vandens, veikiant ultragarsu.
Pašalinus deguonį, praleidžiant helio dujas,
ištirpinama 200 mg SIN-1 medžiagos, tirpalas šaldomas-
džiovinamas ir išskirtas kietas kompleksas džiovinamas

2 val. 40-50°C temperatūroje. Tirpalas ir medžiaga saugomi nuo šviesos poveikio.

Gaunama 2.8 ± 0.1 g SIN-1A/RAMEB komplekso šviesiai geltonų miltelių pavidale. Nuostolis džiovinant <1%.

- 5 HPLC analizė: SIN-1: nenustatyta
 SIN-1A: $12.0 \pm 0.2\%$
 SIN-1C: $0.6 \pm 0.1\%$

I.5 pavyzdys

10

SIN-1A/ β CD komplekso paruošimas fosfatiname buferyje

- 1 g β CD (vandens kiekis:14%) ištirpinama 55 ml fosfatinio buferio tirpale, kurio pH=8.0, sutinkamai su USP XXII, veikiant ultragarsu. Pašalinus deguonį helio
- 15 pagalba, ištirpinama 100 mg SIN-1. Tirpalas nedelsiant šaldomas-džiovinamas. Tirpalas ir medžiaga saugomi nuo šviesos poveikio. Gaunama 1 ± 0.1 g SIN-1A/ β CD gelsvos spalvos labai purių miltelių. Nuostolis džiovinant < 1%.

- 20 HPLC analizė: SIN-1 kiekis: nenustatyta
 SIN-1A kiekis: 8.3%
 SIN-1C kiekis: 0.24%

I.6 pavyzdys

25

- 1 g β CD (vandens kiekis 14%), 100 mg SIN-1 hidrochlorido ir 100 mg amonio acetato kruopščiai maišomi grūstuvėlyje 15 min. Trumpai pagrūdus, mišinys tampa aiškiai geltonas. Išlaikius 2 dienas uždareme, nuo
- 30 šviesos apsaugotame inde, HPLC analizė, sutinkamai su I.1 pavyzdžiu, duoda sekančius rezultatus:

SIN-1 kiekis: nenustatyta

SIN-1A kiekis: $7.9 \pm 0.2\%$

SIN-1C kiekis: $0.41 \pm 0.1\%$

5 I. 7 pavyzdys

Panaudojant I.6 pavyzdžio būdą, bet imant 50 mg amonio acetato, stebimas SIN-1A (geltona spalva) susidarymas yra lėtesnis, jis trunka keletą valandų.

10 HPLC analizė, išlaikius SIN-1A/ β CD 2 dienas:

SIN-1: $0.5 \pm 0.1\%$

SIN-1A: $6.9 \pm 0.2\%$

SIN-1C: $0.6 \pm 0.1\%$

15 I.8 pavyzdys

Laikantis procedūros, aprašytos I.6 pavyzdyje, bet panaudojant 300 mg amonio acetato, mišinio geltona spalva atsiranda praktiškai tuoju pat po komponentų
20 sumaišymo.

HPLC analizė β CD kompleksui tą pačią dieną po paruošimo:

SIN-1: nenustatyta

SIN-1A: $6.9 \pm 0.2\%$

25 SIN-1C: $0.5 \pm 0.1\%$

I.9 pavyzdys

1 g β CD (vandens kiekis 14%), 100 mg SIN-1
hidrochlorido ir 100 mg natrio acetato $3H_2O$ kruopščiai
30 maišomi grūstuvėlyje 15 min., po to mišinys apdorojamas
termiškai 1 val. $70^\circ C$ temperatūroje.

Terminiškai apdoroto pavyzdžio HPLC analizė:

SIN-1: nenustatyta

SIN-1A: $7.1 \pm 0.2\%$

SIN-1C: $0.8 \pm 0.1\%$

5 II. PALYGINAMIEJI PAVYZDŽIAI

II.1 pavyzdys

Bandytas SIN-1A/ β CD paruošimas su acto rūgštimi.

10 Paruošimas atliekamas taip, kaip I.2 pavyzdyje, bet vietoje vandens ir amonio acetato β CD ištirpinamas 0.1M acto rūgšties tirpale.

Produkto HPLC analizė: SIN-1: 8.4%

SIN-1A: 0.28%

15 SIN-1C: nenustatyta

Tokiu būdu, kietas SIN-1A/ β CD kompleksas neišskirtas.

II.2 pavyzdys

20 Bandytas SIN-1A/ β CD paruošimas su natrio hidroksidu.

Komplekso sudarymas atliekamas taip, kaip aprašyta I.5 pavyzdyje, bet β CD ištirpinamas 55 ml vandeninio natrio hidroksido tirpale, kurio pH=8.4, vietoj naudoto amonio acetato. Gauto kieto produkto HPLC analizė:

25 SIN-1: 10.5%

SIN-1A: 0.40%

SIN-1C: nenustatyta

SIN-1A/ β CD kompleksas nėra išskirtas.

III. ANALITINIAI IR BIOLOGINIAI PAVYZDŽIAI

III. 1 pavyzdys

5 SIN-1A kompleksų stabilumas ir konversijos efektyvumas
parodyti 1 lentelėje. Pavyzdžiai buvo laikyti 11
mėnesių kambario temperatūroje oro atmosferoje
stikliniuose induose, apsaugotuose nuo šviesos
poveikio. SIN-1A kiekis yra pateiktas SIN-1C
10 ekvivalentu.

1 lentelė

	SIN-1 kiekis %		SIN-1A kiekis %		SIN-1C kiekis %	
	po paruo- šimo	išlai- kius 11 mėn.	po paruo- šimo	išlai- kius 11 mėn.	po paruo- šimo	išlai- kius 11 mėn.
SIN-1A/ α CD	3.59		2.46		0.68	
SIN-1A/ β CD	0	0	10.66	9.59	0.68	0.50
SIN-1A/ γ CD	0	0	11.71	7.23	0.32	0.49
SIN-1A/ HPBCD	0.03	0	11.61	7.53	0.36	0.39
SIN-1A/ RAMEB	0	0	12.11	9.43	0.68	0.87

15 III. 2 pavyzdys

SIN-1A/ β CD pavyzdys tuojau pat po jo paruošimo turi
11.47% SIN-1A. Išlaikius kambario temperatūroje 12
mėnesių, jis turi 8.36% SIN-1A, o praėjus 23 mėnesiams,
20 jis turi 6.59% SIN-1A. SIN-1C kiekiai atitinkamai lygūs
0.18, 1.31 ir 1.57%.

Kompleksai, turėjo apytiksliai 5-8% intarpinio vandens, daugiausia prijungto prie ciklodekstrino ertmės.

III. 3 pavyzdys

5

Stabilumą didinantis temperatūrinio apdorojimo, atlikto po šaldymo - džiovinimo (antrinis džiovinimas), efektas parodytas 2 lentelėje.

2 lentelė

10

SIN-1A/ β CD	SIN-1 kiekis%			SIN-1A kiekis%			SIN-1C kiekis%	
	po paruošimo	pa- išlai- kius 11 mėn.		po paruošimo	pa- išlai- kius 11 mėn.		po paruošimo	pa- išlai- kius 11 mėn.
SIN-1A/ β CD	0	0		12.7	10.89		0.40	0.79
SIN-1A/ β CD, apdorotas termiškai	0	0		12.7	12.50		0.40	0.56
	po paruošimo	pa- išlai- kius 19 mėn.		po paruošimo	pa- išlai- kius 19 mėn.		po paruošimo	pa- išlai- kius 19 mėn.
SIN-1A/ β CD	0.04	0		14.81	7.41		0.29	1.75
SIN-1A/ β CD, apdorotas termiškai	0.04	0		14.81	12.41		0.29	1.15

III. 4 pavyzdys

15 NO išskyrimo iš SIN-1A/ β CD komplekso greitis ir apimtis.

NO išskyrimas SIN-1A/CD tirpaluose buvo tiriamas cheminiais ir biologiniais metodais.

20 250 mg komplekso (atitinka apytikriai 25 mg SIN-1A) ištirpinama 100 ml distiliuoto vandens. Iš karto po ištirpinimo NO išskyrimas netiesiogiai nustatomas vienu

metu matuojant SIN-1A kiekio sumažėjimą ir SIN-1C metabolito susidarymą HPLC pagalba kaip funkciją nuo laiko. Matavimai kartojami skirtingais laiko intervalais, saugojantis šviesos poveikio.

- 5 3 lentelė parodo SIN-1A skilimo distiliuotame vandenyje kambario temperatūroje, esant β CD, gammaCD ir HPBCD, kinetiką.

3 lentelė

10

laikas,min.	β CD kompleksas		γ CD kompleksas		HPBCD kompleksas	
	SIN-1A	SIN-1C	SIN-1A	SIN-1C	SIN-1A	SIN-1C
	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$
0	213	13	270	7	240	8
20	152	39	-	-	-	-
40	116	53	-	-	-	-
50	104	59	165	46	135	52
70	86	65	-	-	-	-
100	55	75	140	58	92	70
130	40	86	-	-	80	140
180	19	95	95	75	-	-

Nustatytas kompleksų $T_{1/2}$ (gyvavimo pusperiodis), išskaičiuotas iš SIN-1A kiekio sumažėjimo, yra 53 min. - β CD, 24 min. - gammaCD ir 70 min. - HPBCD.

15

III. 5 pavyzdys

- NO išskyrimas labiau praskiestame SIN-1A/ β CD tirpale (100 $\mu\text{g/ml}$ SIN-1A/ β CD komplekso atitinka 10 $\mu\text{g/ml}$ SIN-1A) nustatomas UV-spektrofotometriškai, matuojant
- 20

SIN-1C metabolito susidarymą kaip nuo laiko priklausančią funkciją. Perėjimas SIN-1A→SIN-1C lydimas labai būdingo UV-spektrinio pokyčio, nes SIN-1A turi UV maksimumą prie 230 ± 1 nm ir nerodo absorbcijos
5 prie 277 ± 1 nm ($\lambda_{\max}$ SIN-1C).

10 mg SIN-1A/ β CD komplekso (atitinka apytikriai 1 mg SIN-1A) ištirpinama 100 ml distiliuoto vandens. Tirpalo UV-spektras registruojamas tarp 200-350 nm
10 nepraskiedus, nedelsiant po ištirpinimo, ir registravimas pakartojamas skirtingais laiko intervalais, saugantis šviesos poveikio. Susidaręs SIN-1C kiekis išskaičiuojamas iš absorbcijos prie 277 ± 1 nm reikšmių, naudojant kalibracinę kreivę, standartu imant
15 SIN-1C. SIN-1C koncentracija buvo mažesnė negu 0.7 $\mu\text{g/ml}$ iškart po ištirpinimo ir apytikriai buvo 7.8 $\mu\text{g/ml}$ po 270 min. Matyt, išskiriamas ekvivalentinis NO kiekis. Nustatytas komplekso gyvavimo pusperiodis: 90-100 min.
20 Fig.1 iliustruoja UV-spektro kitimą kaip laiko funkciją: parodytas SIN-1A/ β CD komplekso UV spektras 10 minučių intervalais iki 160 minučių, ištirpinus 10 mg komplekso 100 ml vandens. Yra stebima absorbcijos priklausomybė nuo bangos ilgio.

25

III. 6 pavyzdys

NO susidarymas nustatomas tiesiogiai, naudojant NO specifinį porfirininį mikrosensorinį detektorių. Metodas (Nature, Vol.358 p.675,1992) įgalina kontroliuoti
30 NO išsiskyrimą iki 10^{-20} molių vienoje ląstelėje

biologinėse mikrosistemose amperometriniu ar voltametriniu metodu.

1 mM SIN-1A/ β CD fosfatiname buferyje, kurio pH=7.4, 37°C temperatūroje pirmas 5 minutes NO išskiria 2.37 μ M/min. greičiu, o tarp 10-os ir 30-os minutės - 0.17 μ M/min. greičiu. Ištirpinant 0.1 mM medžiagos, reikšmės atitinkamai yra 0.42 μ M ir 0.07 μ M.

III. 7 pavyzdys

10

Trombocitų agregacijos inhibicija SIN-1A/ β CD komplekso pagalba:

Azoto oksidas būdavo identifikuojamas kaip natūralus molekulinis rodiklis trombocitų agregacijos inhibicijoje, naudojant guanilato-ciklazės/ciklinę GMP sistemą (Blood, 57.946, 1981). SIN-1 ir SIN-1A/ β CD komplekso biologiniai efektai buvo tiriami, lyginant jų trombocitų agregaciją inhibuojančius efektus.

Trombocitų agregacija buvo tyrinėjama trombocitais turtingoje triušio ir žmogaus plazmoje (J. Cardiovasc.Pharmacol. 14 suppl. 11; psl.120, 1989). Kiekvienoje trombocitais turtingoje triušių plazmos partijoje 8 dozių atsako kreivės buvo registruojamos tromboksano mimetiku U-46619 (0.25-4.0 μ M), esant SIN-1A/ β CD komplekso 0, 10^{-7} , 10^{-6} ar 10^{-5} molių koncentracijoms. Dozės atsako kreivės buvo atliekamos atsitiktine seka. Po to buvo naudojama fiksuota U-46619 (4 μ M) koncentracija, kad paruošti ištisas SIN-1 ir Sin-1A/ β CD koncentracijos-inhibicijos kreives. U-46619 indukavo agregaciją priklausomai nuo koncentracijos. Visais atvejais agregaciją inhibuojantis efektas, esant identiškai moliarinei koncentracijai, buvo žymiai

didesnis SIN-1A/ β CD komplekso, lyginant su SIN-1. pD_2 (50% inhibiciją duodančios koncentracijos neigiamas logaritmas) reikšmės yra 5.57 ± 0.11 ($n=7$) SIN-1 ir 6.36 ± 0.07 ($n=7$) SIN-1A/ β CD kompleksui, pažymint, jog
5 šiame teste kompleksas buvo apie 6 kartus efektyvesnis negu SIN-1. Kituose panašiuose eksperimentuose nustatyta, jog SIN-1A/ β CD kompleksas buvo apie 10 kartų efektyvesnis už SIN-1.

10 III. 8 pavyzdys

Eksperimentai, aprašyti III.7 pavyzdyje, pakartoti su SIN-1, naujai paruoštu SIN-1A/ β CD kompleksu (SIN-1A kiekis 14.8%) ir su SIN-1A/ β CD kompleksu, kuris buvo
15 laikomas 23 mėnesius kambario temperatūroje (SIN-1A kiekis iš pradžių buvo 11.47%, po 23 mėnesių - 6.59%), panaudojant citruotą trombocitais turtingą plazmą. 4 lentelė iliustruoja rezultatus, rodančius neigiamus logaritmus (pD_2) SIN-1 ir SIN-1A/ β CD komplekso
20 koncentracijos, sąlygojančios U46619 indukuotos agregacijos trombocitais turtingoje žmogaus plazmoje 50% inhibiciją.

Yra įvertinti tiek amplitudė, tiek agregacijos kreivės nuožulnumas. Skirtumas pD_2 reikšmėse žymi, jog naujai
25 paruoštas SIN-1A/ β CD buvo apie 8 kartus efektyvesnis už SIN-1. Kompleksas, išlaikytas 23 mėnesius, buvo 3 kartus mažiau aktyvus už naujai paruoštą kompleksą, bet 3 kartus aktyvesnis už patį SIN-1.

In vivo testų rezultatai rodo, jog čia parodyti SIN-
30 1A/ β CD kompleksai yra naudingi trombocitų agregacijos in vivo inhibitoriai.

4 lentelė

Medžiaga	a g r e g a c i j a		
	n	amplitudė	nuožulnumas
SIN-1	10	4.8±0.05	4.85±0.13
SIN-1A/βCD naujai paruoštas (SIN-1A kiekis: 14.81%)	10	5.54±0.10	5.85±0.11
SIN-1A/βCD (išlaikytas 23 mėn., SIN-1A kiekis: 6.59%)	3	5.80±0.16	5.42±0.06

Kaip matyti iš gyvavimo pusperiodžio reikšmių, SIN-1A/ciklodekstrino kompleksai po vaistų įvedimo sugeba nepertraukiamai produkuoti azoto oksidą pastovesniu greičiu ilgesnį laiko tarpą.

III. 9 pavyzdys

10

Pirktinis SIN-1 (CORVASAL) lyginamas su SIN-1A/βCD kompleksu, įvedant jį per triušio miego arteriją. Nembutaliu anestezuotų triušio miego arterija perpjaunama, 3 mm ilgio žiedai imobilizuojami spaustuku ir patalpinami į organų vonias. Susitraukimas indukuojamas tris kartus su 3×10^{-7} M fenileprino, po to praplaunant. Dozės atsako kreivės registruojamos nuo 3×10^{-9} M iki 3×10^{-5} M CORVASAL'o (nurodant SIN-1 kiekį) ir nuo 3×10^{-9} M iki 3×10^{-5} M SIN-1A/βCD (nurodant SIN-1A kiekį).

20

Fig.2 rodo susitraukimo, priklausomai nuo preparato koncentracijos, kreivę. Kaip matosi, βCD kompleksą su SIN-1A turintis preparatas apie 6 kartus efektyvesnis

už laisvą SIN-1. Parodyti taškai pateikia 6 matavimų
vidurkį.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Galinčio išskirti azoto oksidą agento intarpiniai kompleksai su ciklodekstrinais, b e s i s k i r i a n -
5 t y s tuo, kad jie yra stabilūs kietoje būsenoje ir išskiria azoto oksidą kambario temperatūroje, ištirpinus vandenyje arba vandeninėje sistemoje, sudaryti iš N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo ir ciklodekstrinų ir/arba ciklodekstrinų darinių, be to
10 gali turėti fiziologiškai priimtina katalizuojantį arba stabilizuojantį joną.

2. Intarpiniai kompleksai pagal 1 punktą, b e s i - s k i r i a n t y s tuo, kad minėtas jonas yra
15 karboksirūgšties anijonai, tokie kaip acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas, tartratas ir/arba laktatas ir/arba neorganinės rūgšties anijonai, tokie kaip fosfatas, fosfitas, boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, sulfatas, sulfitas ir/arba katijonai,
20 tokie kaip šarminio metalo ir/arba amonio.

3. Intarpiniai kompleksai pagal 1 arba 2 punktus, b e - s i s k i r i a n t y s tuo, kad minėti ciklodekstrinai yra β -ciklodekstrinas, γ -ciklodekstrinas arba α -ciklo-
25 dekstrinas ir/arba ciklodekstrino dariniai yra hidroksipropilinti arba metilinti ciklodekstrinai, tokie kaip hidroksipropil- β -ciklodekstrinas, turintis vidutiniškai 2,8 hidroksipropilo grupių ciklodekstrino vienetui; heptakis-2,6-di-o-metil- β -ciklodekstrinas,
30 atsitiktinai metilintas β -ciklodekstrinas, turintis vidutiniškai 12 metoksigrupių ciklodekstrino vienetui; heptakis-2,3,6-tri-o-metil- β -ciklodekstrinas.

4. Farmacinės kompozicijos, fakultatyviai turinčios įprastas pagalbines ir papildomas medžiagas, naudojamas farmacijoje peroraliniam, parenteraliniam ar kitam medicininiam vartojimui, b e s i s k i r i a n č i o s
5 tuo, kad kaip aktyvų ingredientą turi intarpinius kompleksus pagal 1-3 punktus, ir yra , optimaliai, miltelių, kurie ištirpinami prieš pat vartojimą, formoje.
- 10 5. Farmacinės kompozicijos, b e s i s k i r i a n č i o s tuo, kad kaip aktyvų ingredientą turi kietoje būsenoje stabilaus N-morfolino-N-nitrozaminoacetoneitrilo intarpinius kompleksus su β -ciklodekstrinu, γ -ciklodekstrinu arba α -ciklodekstrinu, galinčius
15 turėti fiziologiškai priimtina katalizuojantį arba stabilizuojantį anijoną pagal 2 punktą, kuris gali būti amonio arba šarminio metalo druskos formoje, geriausiai acetatą.
- 20 6. Rinkiniai su ingredientu, išskiriančiu NO nustatytu kiekiu ir greičiu, ištirpinus vandeninėje terpėje, ir skirti naudoti kaip NO atlaisvinimo standartai, b e - s i s k i r i a n t y s tuo, kad savo sudėtyje kaip aktyvų ingredientą turi intarpinius kompleksus pagal
25 bet kuri iš 1-3 punktų.
7. Stabilių kietoje būsenoje N-morfolino-N-nitrozaminoacetoneitrilo intarpinių kompleksų su ciklodekstrinais arba ciklodekstrinų dariniais gavimo
30 būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad tinkamose pH sąlygose ir esant ciklodekstrinams arba ciklodekstrinų dariniams, sugebantiems sudaryti intarpinius kompleksus, 3-morfolino-sidnoniminą veikia

katalizuojančiais jonais, tuo būdu perkelia pusiausvyrą į N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo susidarymo pusę ir susidariusį N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilą kompleksina ir stabilizuoja, nedelsiant išskiriant
5 kietame pavidale gautus N-morfolino-N-nitrozaminoacetonitrilo ciklodekstrinų intarpinius kompleksus, galinčius turėti jonų, fakultatyviai atitinkamų druskų formoje.

10 8. Būdas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad reakciją 3-morfolino-sidnonimino su ciklodekstrinu arba ciklodekstrino dariniu vykdo kietoje būsenoje, dalyvaujant katalizuojančiam jonui fakultatyviai jo druskos formoje, kruopščiai sumaišant
15 arba sutrinant komponentus, arba šaldant-džiovinant vandeninį komponentų tirpalą, pašalinus iš jo deguonį; po to atlieka antrinį džiovinimą vakuume.

20 9. Būdas pagal bet kurią 7 arba 8 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad katalizatoriais ar stabilizatoriais naudoja amonio ar šarminio metalo druskas su karboksirūgšties anijonais, tokiais kaip acetatas, formiatas, propionatas, askorbinatas, tartratas ir/arba neorganinės rūgšties anijonais,
25 tokiais kaip boratas, karbonatas, hidrokarbonatas, fosfatas, fosfitas, sulfatas ir/arba sulfitas.

10. Būdas pagal bet kurią iš 7-9 punktų, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad reakciją vykdo pH intervale 6-10
30 ir -kada vanduo naudojamas reakcijos terpe- atlieka antrinį džiovinimą 40-100°C temperatūroje, geriausiai, 50-70°C temperatūroje.

1/2

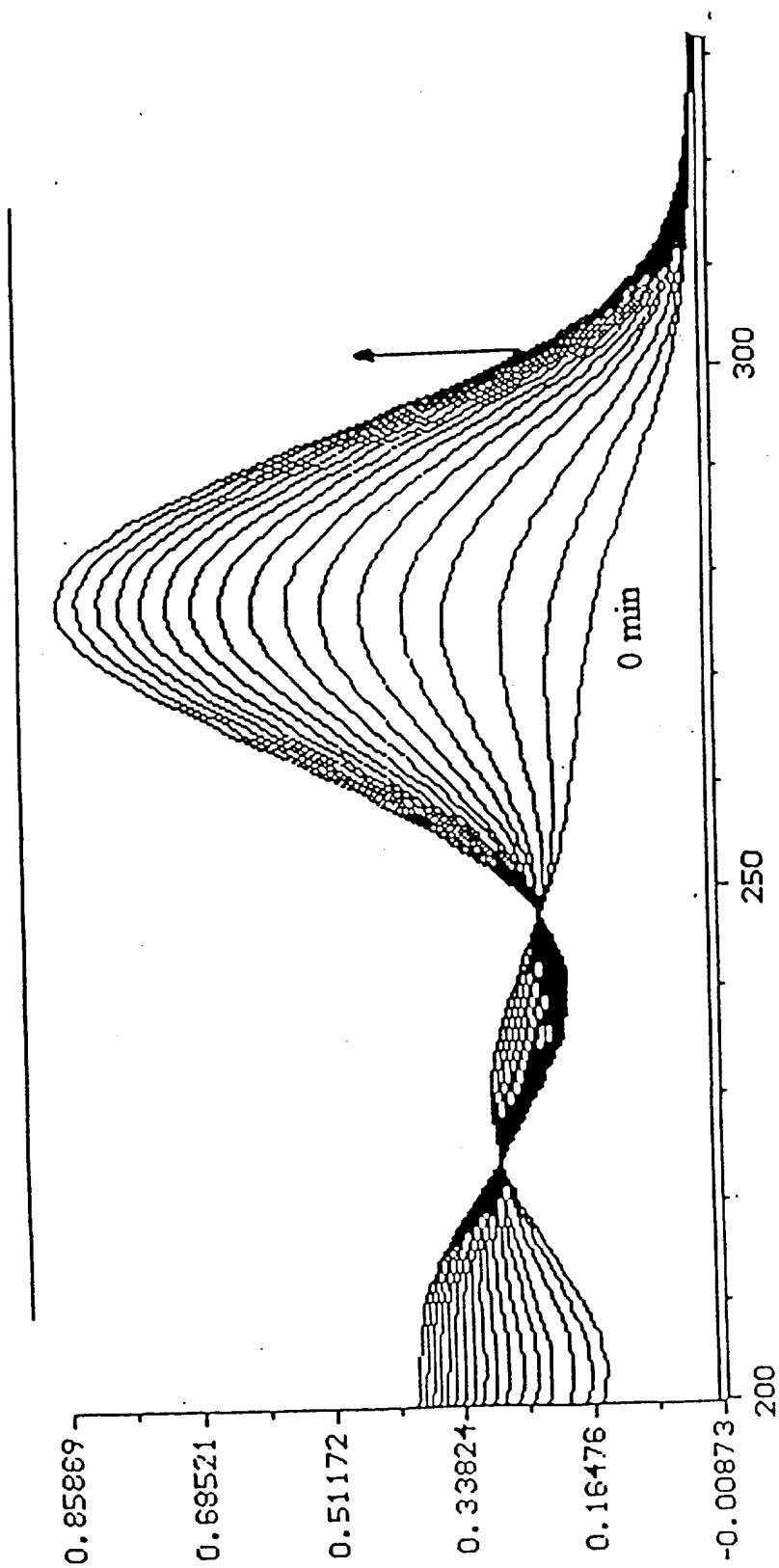


Fig.1

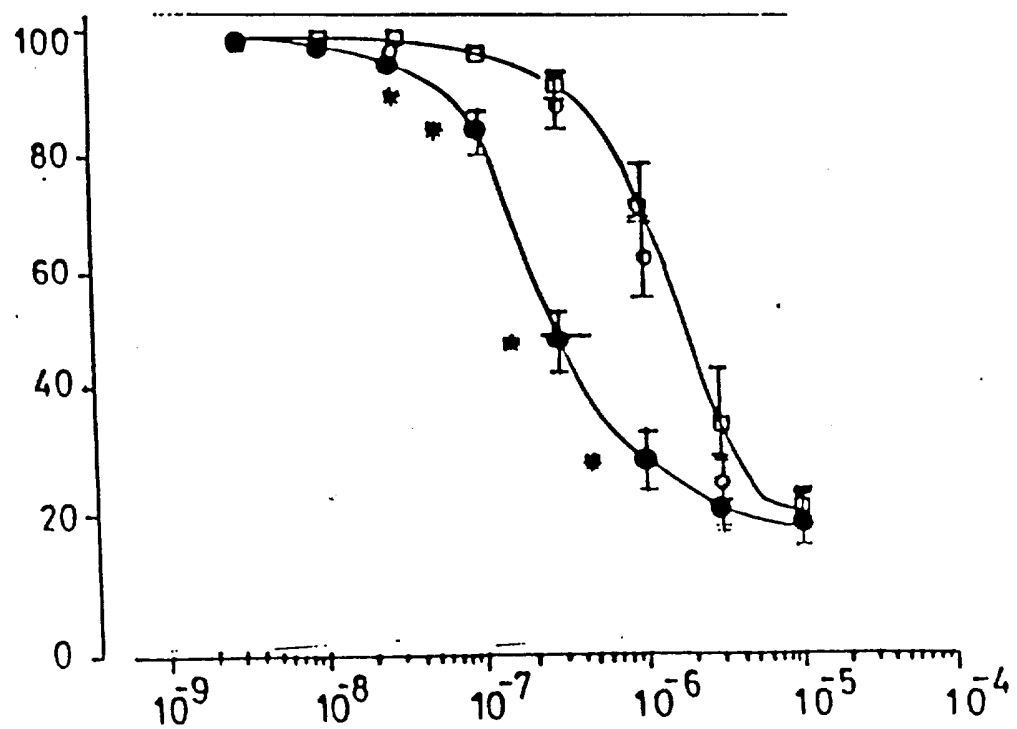


FIG. 2