

- (11) Patento numeris: **4487**
- (51) Int. Cl.⁶: **A61K 38/11**
A61K 9/08
- (21) Paraiškos numeris: **98-073**
- (22) Paraiškos padavimo data: **1998 05 27**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1998 12 28**
- (45) Patento paskelbimo data: **1999 04 26**
- (72) Išradėjas:
Antanas-Juozas Gendrolis, LT
Rimantas Klimas, LT
Rima-Jūratė Gerbutavičienė, LT
Vytautas Budnikas, LT
Jonas Maciulevičius, LT
- (73) Patento savininkas:
Kauno Medicinos Akademija, Mickevičiaus g. 9, 3000 Kaunas, LT
- (74) Patentinis patikėtinis:
Danutė Lišauskaitė, 41, Studentų g. 32-3, 3028 Kaunas, LT
-

- (54) Pavadinimas:
Antidiuretinis preparatas ir jo gamybos būdas

- (57) Referatas:

Išradimas priklauso medicinos sričiai.

Išradimo tikslas - padidinti antidiuretinio preparato farmakoterapinį aktyvumą ir patobulinti gamybos būdą.

I antidiuretinio preparato, sudaryto iš veikliosios medžiagos, išskirtos iš galvijų hipofizės užpakalinės dalies ekstrakto, ir konservanto sudėtį įeina tokie komponentai:

chromatografiškai išgrynintas vazopresinas	0,01 g,
chlorbutanolhidratas	5,0 g,
natrio acetatas	2,2 g,
ledinė acto rūgštis (0,1 mol/l koncentracijos)	836,6 ml,
natrio chloridas	6,8 g,
injekcinis vanduo	iki 1000 ml tirpalo.

Veikliąją medžiagą - chromatografiškai išgrynintą vazopresiną ištirpina acetatiniame buferiniame tirpale, izotonizuoja natrio chloridu, tirpalą konservuoja chlorbutanolhidratu, filtruoja ir išpilsto į ampules.

Pareiškiamo preparato privalumai yra tie, kad padidėjo jo biologinis ir farmakoterapinis aktyvumas, nėra pašalinių baltyminių priemaišų.

Išradime pateikiama farmacinė kompozicija, naudojama ligonių gydymui, esant antidiuretinio hormono nepakankamumui, bei jos gamybos būdas.

Šio susirgimo gydymui lietuviškų vaistų nėra, arba jie yra pasenę ir neatitinka šiuolaikinių reikalavimų. Antidiuretinio hormono nepakankamumo atveju sutrinka skysčių apykaita žmogaus organizme, per parą išsiskiria net iki 20 litrų šlapimo. Antidiuretiniai vaistai sureguliuoja išskiriamo šlapimo tūrį.

Žinomas preparatas, pasižymintis antidiuretinio veikimu, yra pituitrinas, kurio sudėtyje yra du hipofizės užpakalinės dalies hormonai (48 % oksitocino, 39 % vazopresino) ir 13 % pašalinių priemaišų. Konservantas yra fenolis.

Pituitrino biologinis aktyvumas - 5 VV/ml. (Žr. buv. TSRS Medicinos pramonės ministerijos patvirtintą dokumentą "Grupovoj promyšlenyj reglament Nr.7-11-45 na proizvodstvo pituitrina dlia injekcij", 1975 m., 2, 31, 32 psl.).

Taip pat žinomas preparato gamybos būdas, kuriame veikliąją medžiagą, išskirtą iš galvijų hipofizės užpakalinės dalies ekstrakto, ištirpina vandenyje, pašalina baltymus ir konservuoja 0,3 % fenolio tirpalu. Pagamintą tirpalą filtruoja ir išpilsto į 1,0 - 1,1 ml ampules (Žr. buv. TSRS Medicinos pramonės ministerijos patvirtintą dokumentą "Grupovoj promyšlenyj reglament Nr.7-11-45 na proizvodstvo pituitrina dlia injekcij", 31-34 psl.).

Žinomo preparato pituitrino trūkumai:

1. Mažas pagaminto ekstrakto biologinis aktyvumas 3-5 VV/mg, nes koloidinės geležies tirpalas, kuris vartojamas baltymų atskyrimui, adsorbuoja veikliąją medžiagą.
2. Ant bentonito adsorbuotas vazopresinas pagal anksčiau galiojusią technologiją likdavo ir jį atskirti pavykdavo tik dalinai, atliekant eliuciją su 0,1 N vandenilio chlorido rūgštimi. Tolimesnis gryninimas buvo technologiškai neįmanomas.
3. Maža tirpalų koncentracija ir būtinybė juos liofilizuoti.
4. Plaunant absorbento koloidinę geležį druskos rūgšties tirpalu, hormoniniai tirpalai užsiteršia mineralinėmis medžiagomis, kurias reikia vėliau pašalinti ir koncentruoti.
5. Maža išeiga ir dideli gamybos nuostoliai, nes dėl mažo gaunamos substancijos aktyvumo (ne daugiau 5 VV/mg) reikia didinti veikliosios medžiagos masę preparate.

Išradimo tikslas - padidinti preparato farmakoterapinį aktyvumą ir patobulinti jo gamybos būdą.

Veiklioji medžiaga - arginino vazopresinas, išskirtas iš sparčiąją chromatografiją (HPLC) išgryninto galvijų hipofizės užpakalinės dalies ekstrakto, - ciklinis

nanopeptidas, kurio bendra formulė

Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂.

Išradimo esmė yra ta, kad į preparato, sudaryto iš veikliosios medžiagos, išskirtos iš galvijų hipofizės užpakalinės dalies ekstrakto, ir konservanto, sudėtį įeina tokie komponentai:

Veiklioji medžiaga:

Išgrynintas HPLC vazopresinas - 0,01 g

Konservantas:

Chlorbutanolhidratas

(buv. TSRS FS 42-1574-80) - 5,0 g

Stabilizuojanti medžiaga:

Chemiškai grynas natrio acetatas

(buv. TSRS GOST 199-78) - 2,2 g

Chemiškai gryna acto rūgštis 0,1 mol/l

(buv. TSRS GOST 61-75) - 836,60 ml

Izotonizuojanti medžiaga:

Natrio chloridas

(buv. TSRS FS 42-2572-88) - 6,8 g

Injekcinis vanduo

(buv. TSRS FS 42-2520-91) - iki 1000 ml tirpalo.

Preparato gamybos būdo esmė yra ta, kad veikliąją medžiagą ištirpinant, konservuojant, filtruojant ir išpilstant į ampules, - veikliąją medžiagą - HPLC išgrynintą vazopresiną ištirpina acetatiniame buferiniame tirpale, izotonizuoja natrio chloridu, ir tirpalą konservuoja chlorbutanolhidratu.

Išradimo esmė yra taip pat ta, kad jis skirtas necukrinio diabeto gydymui.

Antidiuretinio preparato, vadinamo Bovipresinu, gamybos būdo pavyzdys.

Pirmiausia paruošiama 0,1 mol/l acto rūgšties tirpalas.

5,8 ml "ledinės" acto rūgšties GOST 61-75 (atitinkančios buv. TSRS valst. standarto reikalavimus) praskiedžiama 1 l vandeniui injekcijoms.

Po to sudaromas buferinis tirpalas. 836,60 mol/l acto rūgštyje ištirpinama 2,2 g natrio acetato ir praskiedžiama injekciniu vandeniu iki 1 litro tirpalo.

Gautame buferiniame tirpale tirpinama 6,8 g natrio chlorido tirpalo izotonizavimui, kad tirpalo osmotinis slėgis būtų lygus organizmo skysčių osmotiniam slėgiui. Į taip paruoštą tirpalą sudedamas konservantas. 5 g chlorbutanolhidrato sutrinama grūstuvėje ir užpilama 300 ml buferinio acetato tirpalu. Gerai išmaišoma ir supilamas likęs tirpalo kiekis (700 ml). Maišoma 10-20 min. maišykle. Sandariai uždarytame inde paliekama 12 val. Chlorbutanolhidratui ištirpus, patikrinamas pH, kurio vertė turi būti 3,80-3,95 ribose.

Po to paruoštame tirpale ištirpinama 0,01 g HPLC išvalyto vazopresino milteilių, kurių biologinis aktyvumas 450-500 VV/mg ir grynumas ne mažesnis 95 % HPLC oksitocino atžvilgiu ir gerai išmaišoma. Pagamintas tirpalas filtruojamas nuo mechaninių priemaišų per membraninius filtrus (per membraną su porų diametru 0,22 μm). Gaunama 860 ml preparato, kuris išpilstomas po 1,1 ml į

neutralaus stiklo ampules inertinių dujų aplinkoje.

Preparatui, pasižyminčiam antidiuretinio veikimu, pavadintam Bovipresinu injekcijoms, buvo atlikti klinikiniai tyrimai ligoniams, sergantiems necukrinio diabetu.

Šių tyrimų tikslas - nustatyti Bovipresino antidiuretinį efektą ir toleranciją.

Tyrimuose dalyvavo abiejų lyčių įvairaus amžiaus 36 ligoniai. Jie buvo suskirstyti į 4 grupes: kontrolinė - 7 ligoniai, necukrinio diabeto - 24 ligoniai, psichologinės polidipsijos - 4 ligoniai, nefrogeninio diabeto - 1 ligonis (1 diagrama).

Tyrimų eiga

Skysčių sulaikymo-Bovipresino mėginys atliktas, esant abejotinai necukrinio diabeto diagnozei ir skiriant 5 VV Bovipresino į raumenis bei stebint kraujo plazmos ir šlapimo osmoliariškumą kas 1 val. (iš viso 4 val).

Skysčių saulaikymo - vazopresino mėginio rezultatai pateikti 1 lentelėje ir 1 diagramoje. Bovipresino antidiuretinis efektas stebėtas visiems ligoniams. Vienam pacientui jis buvo minimalus ir nepakankamas, kadangi šlapimo osmoliariškumas nepasiekė normos (nefrogeninio diabeto atveju). Kontrolinėje grupėje kaip ir ligoniams, sergantiems psichogenine polidipsija, šlapimo osmoliariškumas padidėjo mažiau nei 10 % (9,46 % ir 4,99 % atitinkamai). Tuo tarpu skysčių sulaikymas pastariesiems ženkliai padidino šlapimo koncentraciją (71,25 %), kas ir padėjo ekskliuduoti jiems antidiuretinio hormono nepakankamumą.

Ryškiausias teigiamas Bovipresino efektas stebėtas ligoniams, sergantiems necukrinio diabetu, t. y. esant antidiuretinio hormono nepakankamumui. Šlapimo osmoliariškumas po 5 VV Bovipresino injekcijos padidėjo vidutiniškai daugiau nei du kartus (63,82 %). Tokiu būdu jiems buvo patvirtinta centrinio neurohumoralinio necukrinio diabeto diagnozė.

Tolimesnis tyrimas buvo atliekamas skiriant Bovipresiną tik tiems ligoniams, kuriems neurohumoralinio necukrinio diabeto diagnozė nekėlė abejonės.

Bovipresinas vartotas skiriant jį į raumenis, po oda bei į veną nedidelių infuzijų pavidalu. Pastebėta, jog skiriant medikamentą į raumenis gaunamas greitas ir trumpesnis efektas. Injekuojant po oda poveikis tęsiasi ilgiau. Į veną skirtas ligoniams po neurochirurginių operacijų ar kitais atvejais esant indikacijoms infuzoterapijai. Antidiuretinis Bovipresino efektas buvo vertinamas pagal diurezės bei suvartojamų skysčių dinamiką bei šlapimo osmoliariškumo kitimus paros bėgyje, tiriant jį kas 3 valandas (9-12-15-18-21-24-3-6 val.). Dozė buvo koreguojama siekiant palaikyti šlapimo osmoliariškumą vidutinės normos ribose (600 ± 200 mmol/kg) vengiant medikamento perdozavimo.

Pradinė dozė buvo parenkama minimali ir palaipsniui didinama priklausomai nuo ligos sunkumo laipsnio (2 lentelė). Tačiau pastebėta, jog Bovipresino veikimo efektas priklausė ne vien nuo ligos sunkumo - t. y. antidiuretinio hormono nepakankamumo laipsnio, bet ir nuo ligos trukmės bei anksčiau vartoto medikamento ir kiekvienam ligoniui buvo individualus.

Tiriant šlapimo osmoliariškumą nustatyta, jog Bovipresino poveikis sušvirkštus jį į raumenis trunka apie 3 val., vėliau šlapimo osmoliariškumas artėja prie apatinės normos ribos ar tampa žemesnis (3 lentelė, 1 grafikas). Švirkščiant po oda, poveikis tęsiasi 4-6 val., todėl skiriant 4 kartus paroje pasiekiamas tolygiausio veikimo rezultatas (2 grafikas). Intraveninės infuzijos metu medikamento veikimas nutrūksta jai pasibaigus, todėl tinka tais atvejais, kai būtina infuzoterapija (ligonis negali gerti, yra nesąmoningoje būsenoje ir pan.), o ją baigus būtina Bovipresiną toliau skirti į raumenis ar po oda.

ISVADOS

1. Antidiuretinis preparatas Bovipresinas efektyvus esant neurohumoraliniam necukriniam diabetui, padidinant antidiurezę ir šlapimo osmoliariškumą ne mažiau kaip du kartus.

2. Bovipresino dozė ligoniui turi būti parenkama individualiai priklausomai nuo antidiuretinio hormono nepakankamumo laipsnio ir individualaus jautrumo medikamentui.

3. Jautrumas Bovipresinui priklauso nuo ligos trukmės ir vartoto vazopresino preparato. Ligoniams, ilgai vartojusiems sintetinio vazopresino preparatus, medikamento efektas blogesnis.

4. Bovipresino injekcija į raumenis veikia greitai, stipriai ir trumpai, todėl labai tinka neurohumoralinio necukrinio diabeto diagnostikai atliekant skysčių suėmimo - vazopresino mėginį.

5. Infuzinė medikamento forma tinka ligoniams, esantiems sunkioje ar nesąmoningoje būklėje bei po neurochirurginių operacijų ar galvos traumų, ūmai išsyrškėjusio ar tranzitorio necukrinio diabeto gydymui.

6. Bovipresinas naudotinas tuomet, kai preparato negalima skirti intranazaliai (sloga, kataras).

7. Dėl trumpo veikimo laiko medikamentą rekomenduotina skirti po oda ne rečiau kaip 3-4 kartus paroje.

8. Bovipresino pašaliniai reiškiniai vartojant jį optimalia doze neišryškėjo.

Parciškiamas preparatas žymiai pranašesnis už žinomą tuo, kad padidintas farmakoterapinis preparato aktyvumas, nes gaminamas iš chromatografiškai grynos vaistinės medžiagos (substancijos), kurios biologinis aktyvumas (vazopresino grynumas ne mažesnis 95 %) ne mažiau 450 VV/mg (buvo 3-5 VV/mg) ir oksitocino ne daugiau 0,1 %.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Antidiuretinis preparatas, sudarytas iš veikliosios medžiagos, išskirtos iš galvijų hipofizės užpakalinės dalies ekstrakto, ir konservanto, b e s i s k i r i a n t i s t u o, kad į jo sudėtį įeina tokie komponentai:

chromatografiškai išgrynintas vazopresinas	- 0,01 g,
chlorbutanolhidratas	- 5,0 g,
natrio acetatas	- 2,2 g,
ledinė acto rūgštis (0,1 mol/l koncentracijos)	- 836,6 ml,
natrio chloridas	- 6,8 g,
injekcinis vanduo	- iki 1000 ml tirpalo.

2. Preparato pagal 1 punktą gamybos būdas, veikliąją medžiagą ištirpinant, konservuojant, filtruojant ir išpilstant į ampules, b e s i s k i r i a n t i s t u o, kad veikliąją medžiagą - chromatografiškai išgrynintą vazopresiną ištirpina acetatiname buferiniame tirpale, izotonizuoja natrio chloridu ir tirpalą konservuoja chlorbutanolhidratu.

3. Preparatas pagal 1 punktą, skirtas necukrinio diabeto gydymui.

1 lentelė

Skysčių sulaikymo - vazopresino mėginio rezultatai

Ligonų grupės	Skysčių sulaikymo mėginys				Atsakas ! Bovipresiną
	Plazmos osmol. svyravimo ribos (mmol/kg)		Šlapimo osmol. svyravimo ribos (mmol/kg)		Šlapimo osmol. svyravimo ri- bos (mmol/kg)
	Pradinis	Mėginio metu	Pradinis	Mėginio metu	
Kontrolinė grupė	285 - 288 N	289 - 295 N	537 - 905 N	739 - 1041 N/↑	875 - 1091 viršutinė nor- mos riba ar ↑ (9,46 %)
Necukrinis diabetas	285 - 303 viršutinė riba ar min ↑	300 - 315 ↑	98 - 288 mažesnis nei plazmos	144 - 331 nežymus ↑	593 - 720 ryškus↑↑↑ (63,82%)
Psichologinė polidipsija	283 - 290 normalus ar min ↓	286 - 290 N	170 - 280 mažesnis nei plazmos	553 - 900 ryškus↑↑↑	621 - 1003 tollesnio padide- jimo nera ar min↑(49%)
Nefrogeninis diabetas	293	305	65	99	149 padidejimo nera ar min ↑

N - normos ribose

(plazmos osmol. N 285 - 295 mmol/kg;
šlapimo osmol. N 400- 900 mmol/kg)

↑ - padidėjęs

↓ - sumažėjęs

2 lentelė

Vidutiniai paros diurezės ir šlapimo osmoliariškumo
pokyčiai gydant Bovipresinu

ADH nepa- kankamumas	Bovipresino vid. paros dozė (VV)	Paros diurezė (l)		Šlapimo osmol. (mmol/kg)	
		iki gydymo	gydant	iki gydymo	gydant
Lengvas	10 - 15	<5	$1,5 \pm 0,5$	200 - 400	600 ± 100
Vidutinis	15 - 20	5 - 10	$2,5 \pm 1$	100 - 200	500 ± 100
Žymus	25 - 30	>10	$4 \pm 1,5$	<100	400 ± 100

ADH - antidiuretinis hormonas

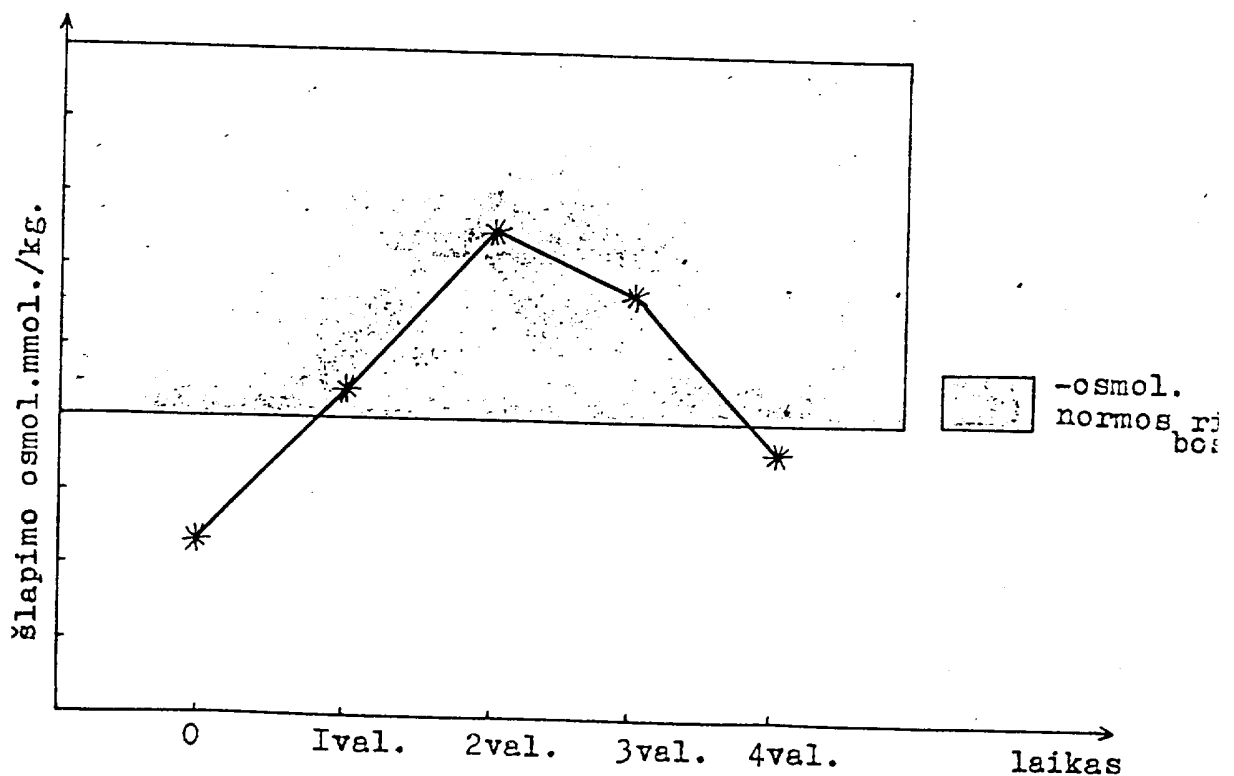
3 lentelė

Šlapimo osmoliariškumo dinar... tyrimo rezultatai po
Bovipresino injekcijos absoliučiais skaičiais ir grafiškai

Šlapimo osmol. Atv.	Pradinis mmol/ kg	Po 1 val. mmol/ kg	Po 2 val. mmol/ kg	Po 3 val. mmol/ kg	Po 4 val. mmol/ kg	Pastabos
1	153	653	720	692	416	Vartojo Adiuretiną
2	284	588	741	535	257	
3	128	467	671	497	323	
4	276	309	680	542	513	
5	283	460	623	523	414	
6	331	502	779	723	562	
7	232	458	415	612	418	
8*	199	326	442	385	293	
9	206	344	575	483	274	Vartojo Adiuretiną
10	298	635	786	841	462	
11	256	423	645	704	294	
12*	144	157	347	274	190	

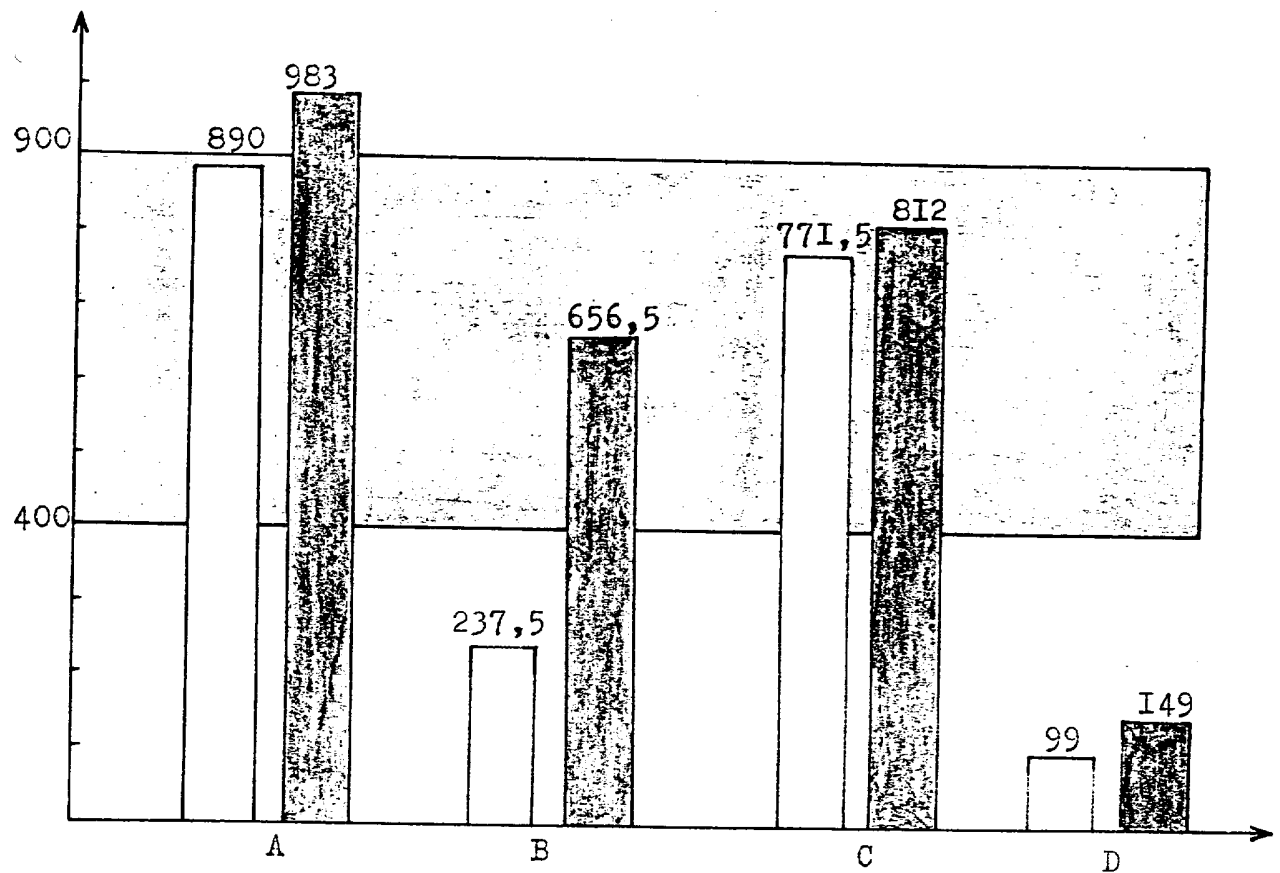
*- ligonis prieš mėginį gydymui vartojo sintetinio vazopresino preparatus

I grafikas



I diagrama

ŠLAPIMO OSMOLI
BOVIPRESINO INJEKCIJOS

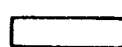


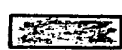
A - kontrolinė grupė

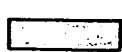
B - necukrinis diabetas

C - psichogeninė polidipsija

D - nefrogeninis diabetas

 - pradinis

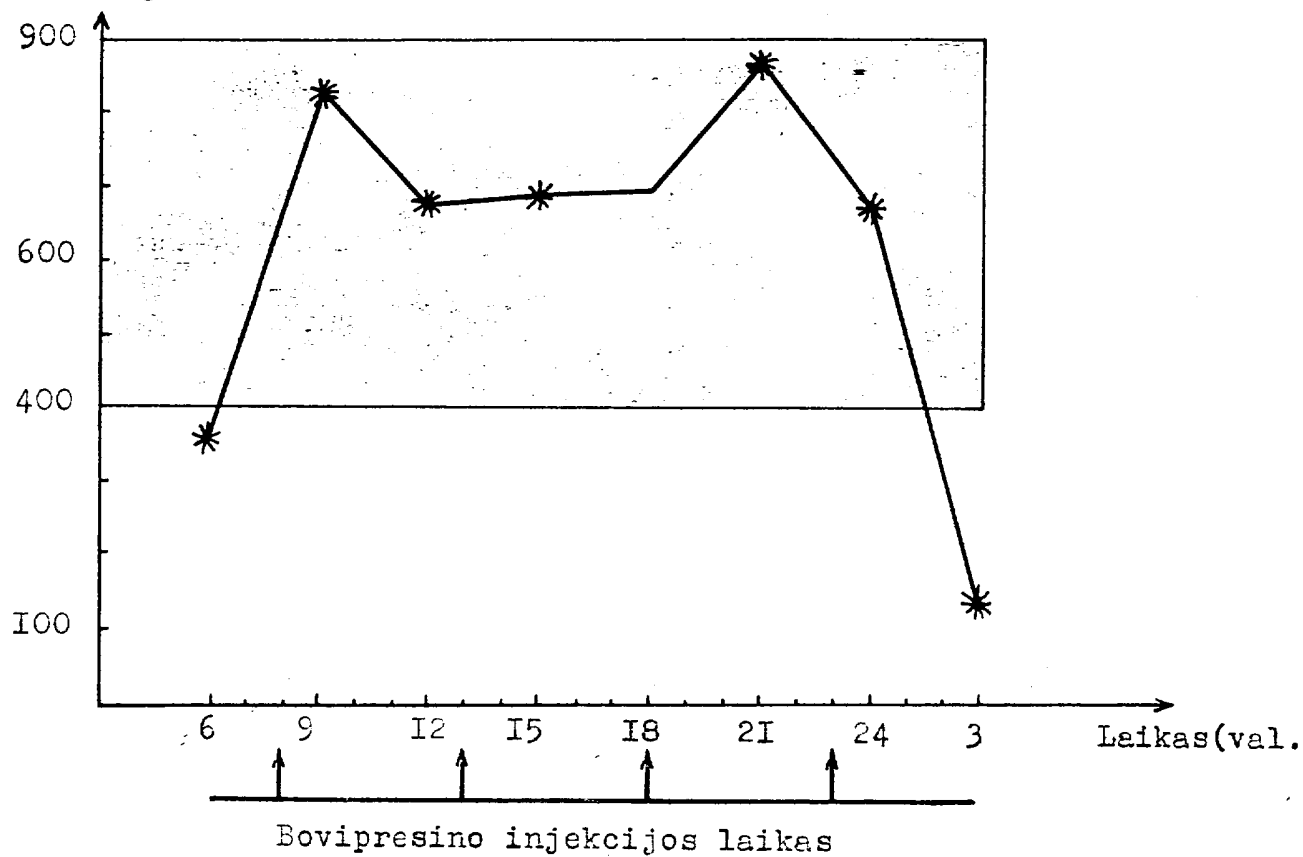
 - po Bovipresino 5VW injekcijos

 - šlapimo osmol.normos ribos

2 grafikas

ŠLAPIMO OSMOLIARIŠKUMO DINAMIKA PAROS
BĖGYJE SKIRIANT BOVIPRESINĄ 4 KARTUS
PO ODA

Šlapimo osmol.
mmol/kg



- šlapimo osmoliarishkumo normos ribos