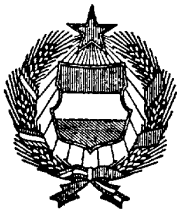


(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

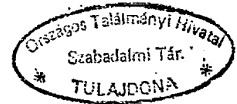
SZOLGÁLATI TALÁLMÁNY

B

(11) 195 424

Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) Int. Cl.4

A 61 K 31/195



A bejelentés napja: (22) 86. 01. 21. (21) (268/86)

A közzététel napja: (41) (42) 87. 09. 28.

Megjelent: (45) 88. 11. 30.

Feltaláló(k): (72)

dr. Tömpe Péter 40%, Krasznai István, 40%,
dr. Petőcz Lujza, 8%, dr. Szemerédi Katalin, 6%,
Hegedűs Mária, 6%, Budapest,
HU

Szabadalmaz: (73)

EGIS Gyógyszergyár, Budapest, HU

(54)

(54) ELJÁRÁS L-3,4-DIHDROXI-FENIL-ALFA-METIL-ALANINT TARTALMAZÓ
GYÓGYÁSZATI OLDATOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás L-3,4-dihidroxi-fenil-alfa-metil-alanint tartalmazó, előnyösen intravénásan befecskendezhető, infúzióban beadható vagy perorálisan adagolható gyógyászati oldat előállítására.

A találmány értelmében a gyógyászati oldat tömegére számított 0,2–3,0 % bórsav vizes oldatához 1–15 % L-3,4-dihidroxi-fenil-alfa-metil-alanint és 0,01–2 % ada-

lékanyagot adunk – ahol a feltüntetett mennyiségek a gyógyászati oldat végső tömegére vonatkoznak –, bázis hozzáadásával 7–8,5 közötti pH-értéket állítunk be, a kapott oldathoz kívánt esetben vizet és/vagy fiziológiás nátriumklorid-oldatot és/vagy vízzel elegyedő, gyógyászati elfogadható szerves oldószert adunk a végső oldattömeg eléréséig, és az oldatot szűrésnek, előnyösen ultraszűrésnek vetjük alá.

A találmány tárgya eljárás L-3,4-dihidroxifenil-alfa-metil-alanint (alfa-metil-DOPA-t) tartalmazó, előnyösen intravénásan befecskendezhető, infúzióban beadható vagy perorálisan adagolható gyógyászati oldat előállítására.

Az alfa-metil-DOPA ismert vérnyomáscsökkentő hatású vegyület [3 344 023 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás], amelyet kiterjedten alkalmaznak a magas vérnyomás kezelésére. A vegyületet többnyire tabletta formájában adják be a magas vérnyomásban szenvedő betegeknek, egyes esetekben azonban perorálisan beadható oldatok vagy intravénás injekció, esetleg infúzió alkalmazására is szükség van.

A 3 526 698 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásból ismert egy alfa-metil-DOPA-tartalmú stabil vizes szuszpenzió. Ez csak perorális beadásra alkalmas, s a felszívódása kedvezőtlenebb, mint az oldaté.

A 3 230 143 sz. amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásból ismert oldat hatóanyagként az alfa-metil-DOPA etilészterének hidrokloridját tartalmazza, amely beadás után a szervezetben alakul át a hatékony vegyületté. Ez az ismert oldat beadható ugyan intravénásan, azonban csak nagy hígításban.

A T/35954 számon 1985. augusztus 28-án közzétett, 4440/83 sz. magyar szabadalmi bejelentés olyan mind intravénásan, mind perorálisan beadható vizes oldatot ismert, amely 1–5% alfa-metil-DOPA-t, 15–75% szolubilizálószer, 20–80% vizet és 0,1–10% adalékanyagot tartalmaz, s a pH-értéke 3–5 közötti. Szolubilizálószerként polivinilpirrolidont vagy glicerint alkalmaznak.

A fenti ismert készítmény viszonylag erős savassága azonban hátrányos az intravénás beadáshoz. Ezért a találmány célja közel semleges kémhatású gyógyászati oldatok biztosítása.

Azt találtuk, hogy a fenti célt elérjük, ha a gyógyászati oldat tömegére számított 0,2–3,0% borsav vizes oldatához 1–15% L-3,4-dihidroxifenil-alfa-metil-alanint és 0,1–2% adalékanyagot adunk – ahol a feltüntetett mennyiségek a gyógyászati oldat végső tömegére vonatkoznak –, bázis hozzáadásával 7–8,5 közötti pH-értéket állítunk be, a kapott oldathoz kívánt esetben vizet és/vagy fiziológiás nátriumklorid-oldatot és/vagy vízzel elegyedő, gyógyászati elfogadható szerves oldószert adunk a végső oldattömeg eléréséig, és az oldatot szűrésnek, előnyösen ultraszűrésnek vetjük alá.

A találmány alapja az a felismerés, hogy az alfa-metil-DOPA borsavval komplex vegyületeket képez, amelyek oldószerekben, így vízben jól oldódnak.

E gyűrűs kelátkomplexek képződése az A. és B. reakcióvázlattal szemléltethető. Ekvimoláris mennyiségű borsavval az (I) általános képletű vegyület, míg ennél kevesebb borsavval a (II) általános képletű vegyület vagy az (I) és (II) általános képletű vegyületek keveréke képződik. A képletekben X jelentése hidrogénion vagy szerves vagy szervetlen kation. Vizsgálataink szerint az X helyén hidrogéniont tartalmazó (I) és (II) általános képletű vegyületek középerősségű savak, amelyek sói elkülöníthetők – erre a találmány szerinti eljárásnál általában nincs szükség – és vízben jól oldódnak. Oldatban természetesen egyensúly áll fenn a komplex vegyületek, a borsav és az alfa-metil-DOPA között.

A találmány szerinti eljárásnál bázisként mind szervetlen, mind szerves bázisokat alkalmazhatunk. Célszerűen olyan bázist használunk, amely vízben jól oldódik

és fiziológiailag elviselhető. Előnyösen nátriumhidroxidot és káliumhidroxidot használunk.

Az adalékanyag például antioxidáns – így nátriumpiroszulfít, nátriumbiszulfít vagy nátriumhidrogén-szulfít –, baktériumölő hatású anyag – így p-hidroxibenzoészav-alkilészter – stb. lehet. Egynél több adalékanyagot is alkalmazhatunk.

Vízzel elegyedő, gyógyászati elfogadható szerves oldószerként például etanolt, izopropanolt, etilén-glikolt, glicerint stb. alkalmazunk.

Intravénásan beadható oldat előállításánál a végső oldattömeg beállításához célszerűen vizet vagy fiziológiás nátriumklorid-oldatot használunk, s a pH-t általában 7,0–7,6 közötti értékre állítjuk be.

Perorálisan beadható oldat készítése esetén a végső oldattömeget vízzel és/vagy vízzel elegyedő, gyógyászati elfogadható szerves oldószerekkel is beállíthatjuk. Az oldat ízének javítására erre a célra vizes szorbit-oldatot is használhatunk. A pH-t 7–8,5 közötti értékre állítjuk be. Mivel a perorális beadás esetén az oldat pH-értéke nem olyan kritikus, mint az intravénás befecskendezésénél, 8–8,5 közötti pH-érték is elfogadható.

A találmány szerinti eljárásnál az adalékanyagot a pH-beállítás után is hozzáadhatjuk az oldathoz, s a pH-beállítást a végső oldattömeg beállítása után megismételhetjük.

Az intravénásan, illetve infúzióban történő beadáshoz a célszerűen 7,0–7,6 közötti pH-értékű oldatot önmagában ismert módon steril oldattá alakítjuk, például mikropórusú szűrőn való átvezetéssel és/vagy hősterilizációval. A steril oldatot felhasználásig a levegőtől elzárva tartjuk, például leforrasztott üvegampullákban.

Meghatároztuk a 2. példa szerinti befecskendezhető készítmény akut toxicitását CFLP törzstenyésztéssel származó, 18–22 g tömegű fehér egereken, dózisonként 5 hím- és 6 nőstényből álló 10 állaton. A vizsgálandó oldatot intravénásan adagoltuk az állatoknak. A kezelés után 14 napos megfigyelést végeztünk. Az állatok csapvizet és standard egerétápot ad libitum fogyaszthattak. Összehasonlításképpen alfa-metil-DOPA-ból fiziológiás sóoldattal készült 1%-os oldattal is elvégeztük a fenti vizsgálatot. (Ez utóbbival kapcsolatban megjegyzendő, hogy kristályos alfa-metil-DOPA-ból készíthető ugyan 1%-os vizes oldat, ez azonban nem stabil, 1–2 óra alatt elbomlik. A frissen készült oldat azonban vizsgálati célokra felhasználható.)

A kapott LD₅₀ értéket az 1. táblázat tartalmazza.

Az 1. táblázatból jól látható, hogy a találmány szerinti készítmény toxicitása gyakorlatilag azonos az alfa-metil-DOPA frissen készült oldatának toxicitásával és összhangban van az irodalmi LD₅₀-értékkel, amely 1700 mg/kg.

A 2. példa szerinti készítmény vérnyomáscsökkentő hatását altatott, 200–250 g tömegű, Wistar patkányokon végeztük. Az artériás vérnyomást az artéria carotisba kötött polietilén kanülön keresztül elektromanométer segítségével mértük. A vizsgált anyagot 20 mg/kg dózisban adagoltuk a vena jugularis externába kötött kanülön keresztül és közvetlenül a beadás előtt, majd 5, 15, 30 és 60 perccel a beadás után mértük a vérnyomást. Összehasonlításképpen az 1% alfa-metil-DOPA-t tartalmazó, fiziológiás sóoldattal frissen készített oldattal is meghatároztuk a vérnyomáscsökkenést. A 2. táblázatban tüntetjük fel a vérnyomásértékeket, a beadás előtt mért vérnyomásértékhez viszonyított változást és a

1. táblázat

Akut toxicitás egéren iv.

Vizsgált oldat	Dózis, mg/kg	Elhullott/kezelt állatok száma			Elhullás %	LD ₅₀ mg/kg
		Hím	Nőstény	Összesen		
2. példa szerinti 3,8%-os oldat	380	0/5	0/5	0/10	0	1520 felett
	760	0/5	0/5	0/10	0	
	1000	0/5	0/5	0/10	0	
	1240	0/5	0/5	0/10	0	
	1520	0/5	0/5	0/10	0	
alfa-metil-DOPA 1%-os oldata	1240	0/5	0/5	0/10	0	1250 felett
fiziológias sóoldattal	1520	0/5	0/5	0/10	0	

szignifikanciára jellemző p értékeket. A mért vérnyomásértékeknél és a számított változásoknál a számí-

tott átlagot adjuk meg a standard szórással együtt. A 2. táblázatból kitűnik, hogy a találmány szerinti

Vérnyomáscsökkentő hatás patkányon iv.

2. táblázat

	Mérés közvetlenül a beadás előtt, 0 perc	5 15 30 60 perccel a beadás után			
2. példa szerinti oldat					
Vérnyomás, kPa	17,50 ± 0,30	16,26 ± 0,51	15,60 ± 0,66	14,80 ± 0,61	14,26 ± 0,65
Vérnyomás változása, kPa	—	- 1,24 ± 0,25	- 1,90 ± 0,41	- 2,70 ± 0,42	- 3,24 ± 0,39
p	—	0,05	0,05	0,05	0,05
α-metil-DOPA 1%-os olda- da fiziológias sóoldattal					
Vérnyomás, kPa	15,60 ± 1,48	14,93 ± 0,86	15,23 ± 0,41	14,93 ± 0,50	13,42 ± 0,76
Vérnyomás változása, kPa	—	0,67 ± 1,73	0,37 ± 1,34	0,67 ± 1,37	2,18 ± 1,69

készítmény a beadást követően 5 perc múlva már jelentősen csökkentette az altatott patkányok vérnyomását. Ez a hatás a vizsgálat 60 perces időtartama alatt stabilizálódott. A vérnyomáscsökkentés statisztikailag szignifikáns volt. Megfigyelhető, hogy a vérnyomás csökkenése rövidebb idő alatt bekövetkezik és nagyobb mértékű, mint az összehasonlításul alkalmazott, egyébként nem stabil 1%-os oldatnál. Hasonló mértékű vérnyomáscsökkentést perorális beadás esetén 250 mg/kg dózisban, azaz a vizsgált iv. dózis 12,5-szeresében hoz létre az alfa-metil-DOPA.

A 2. példa szerinti oldat és a fenti összehasonlító oldat adrenerg receptor hatását izolált patkány vas deferensen vizsgáltuk, elektromos ingerléssel.

140–180 g tömegű patkányokból vas deferenszt különítettünk el Henderson és munkatársai [Br. J. Pharm., 46, 764–766 [1972]], valamint Hart és munkatársai [Br. J. Pharm., 66, 361–363 [1979]] módszerével. A szervet 4 ml térfogatú szervedényben felfüggesztve folyamatosan ingereltük Benett és Stockley szerint [Br. J. Pharm., 50, 453 [1974]]. Az ingerléshez használt áramimpulzusok jellemzői a következők voltak: 50 V feszültség, 0,1 Hz frekvencia, 1 ms időtartam. Amikor az elektromos ingerlésre bekövetkezett összehúzódnások nagysága már nem változott, kumulatív dózis-hatás görbét vettünk fel a 2. példa szerinti oldat, illetve az 1% alfa-metil-DOPA-t tartalmazó, fiziológias sóoldattal frissen készült oldattal. Az adagolást közvetlenül megelőző kontrakció nagyságát alapul véve, kiszámítottuk a gátlás mértékét és meghatároztuk az 50%-os gátlást biztosító koncentrációértéket (IC₅₀). A kétféle vizsgált oldatra kapott IC₅₀-értékeket a 3.

táblázatban tüntetjük fel.

3. táblázat

Vizsgált oldat	IC ₅₀ mol/liter
2. példa szerinti 3,8%-os oldat	2,81 · 10 ⁻²
alfa-metil-DOPE 1%-os oldata fiziológias sóoldattal	3,87 · 10 ⁻²

A 3. táblázat adataiból kitűnik, hogy a találmány szerinti oldat kisebb koncentrációban biztosítja ugyanazt a hatást, mint az összehasonlításul használt, fiziológias sóoldattal készült oldat.

Vizsgáltuk az 1. példa szerint készített oldat stabilitását 25 ± 2 °C hőmérsékleten fehér üvegben 90 napig történő tárolás során. A vizsgálat kezdetén, majd meghatározott időközökben mértük az oldat kémhatását és fajlagos forgatóképességét, kiértékeljük az oldat színét és vékony-rétegekromatográfiás analízist is végeztünk. Ez utóbbihoz Kieselgel GF₂₅₄ réteget (gyártó: Merck) használtunk, a vizsgált oldatból 5 µl mennyiséget cseppentettünk rá, s oldószerként 60 tf% n-butanolból, 15 tf% jégacetből és 25 tf% vízből álló elegyet alkalmaztunk.

Az oldatszint, a fajlagos forgatóképességet és a kémhatást a VI. Magyar Gyógyszerkönyv előírásai szerint határoztuk meg közvetlen beméréssel. A kapott eredményeket a 4. táblázat tartalmazza.

A 4. táblázatból világosan kitűnik, hogy az 1. példa szerinti oldat a 90 napos tárolás során nem változott.

A találmány szerint előállított gyógyászati oldatok megfelelő stabilitással rendelkeznek. Jó felszívódásuk

4. táblázat

Az 1. példa szerinti oldat stabilitása
 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ -on

Tárolási idő, nap	Vékony-réteg-kromatográfiás tisztaság	Oldat-szín	Fajlagos forgató-képesség $[\alpha]^{20}$	pH
0 (tárolás kezdete)	egységes	Z0.1	-19,6	7,5
14	változatlan	Z0.1	-19,5	7,5
20	változatlan	Z0.1	-19,5	7,45
50	változatlan	Z0.1	-19,8	7,5
60	változatlan	Z0.1	-19,8	7,5
90	változatlan	Z0.1	-19,8	7,45

folytán a beadást követően rövidebb időn belül biztosítják a vérnyomáscsökkentő hatást, mint az alfa-metil-DOPA-tartalmú tabletták.

Az oldatokban jelenlevő (I), illetve (II) általános képletű komplex vegyületek toxicitása megegyezik az alfa-metil-DOPA toxicitásával. Az intravénás befecskendezésre alkalmas oldatok közel semleges kémhatásúak, így a szervezet számára kedvezőek.

A találmányt az alábbi példák segítségével részletesen ismertetjük.

1. példa

50 ml desztillált vízben melegítés közben 0,6 g bórsavat oldunk, majd állandó keverés közben 0,02 g nátriumpiroszulfítot és 2,26 g kristályos alfa-metil-DOPA-t (amely 1,5 mól kristályvizet tartalmaz) adunk az oldathoz. 5%-os nátrium-hidroxid-oldattal $7,4 \pm 0,2$ pH-értéket állítunk be, miközben a pH-t elektromos pH-mérő segítségével mérjük. Az oldat térfogatát ezután desztillált vízzel 100 ml-re egészítjük ki, a pH-t ismét ellenőrizzük, ha szükséges, beállítjuk az oldatot mikropórusú szűrőn vezetjük át, 10 ml-es ampullákba töltjük, leforrasztjuk és 100°C -on 30 percig sterilizáljuk. Ilyen módon 2% hatóanyagot tartalmazó intravénásan befecskendezhető oldatot kapunk.

2. példa

Az 1. példában leírt módon járunk el, azzal az eltéréssel, hogy 1,14 g bórsavat és 4,28 g kristályos alfa-

-metil-DOPA-t használunk fel. 3,8% hatóanyagot tartalmazó, intravénásan befecskendezhető oldatot kapunk.

3. példa

5 50 ml desztillált vízben 2,7 g bórsavat oldunk melegítés közben, majd állandó keverés közben 0,2 g nátriumpiroszulfítot és 16,95 g kristályos alfa-metil-DOPA-t (amely 1,5 mól kristályvizet tartalmaz) adunk az oldathoz. 10%-os nátrium-hidroxid-oldat adagolásával a pH-t $8 \pm 0,5$ értékre állítjuk be, és az oldat térfogatát desztillált vízzel 100 ml-re egészítjük ki. Ilyen módon 15% hatóanyagot tartalmazó oldatot kapunk, amely perorálisan beadható. Az oldatot felhasználásig lezárt üveg-edényben vagy műanyag flakonban tartjuk.

4. példa

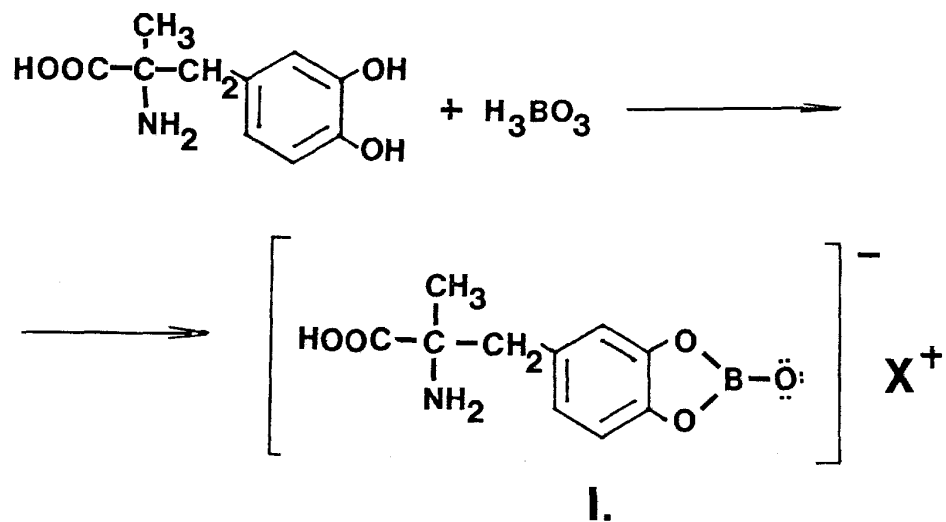
20 A 3. példában leírtak szerint járunk el, azzal az eltéréssel, hogy az oldat térfogatát 50%-os vizes etanollal egészítjük ki 100 ml-re. Perorálisan beadható oldatot kapunk.

Szabadalmi igénypontok

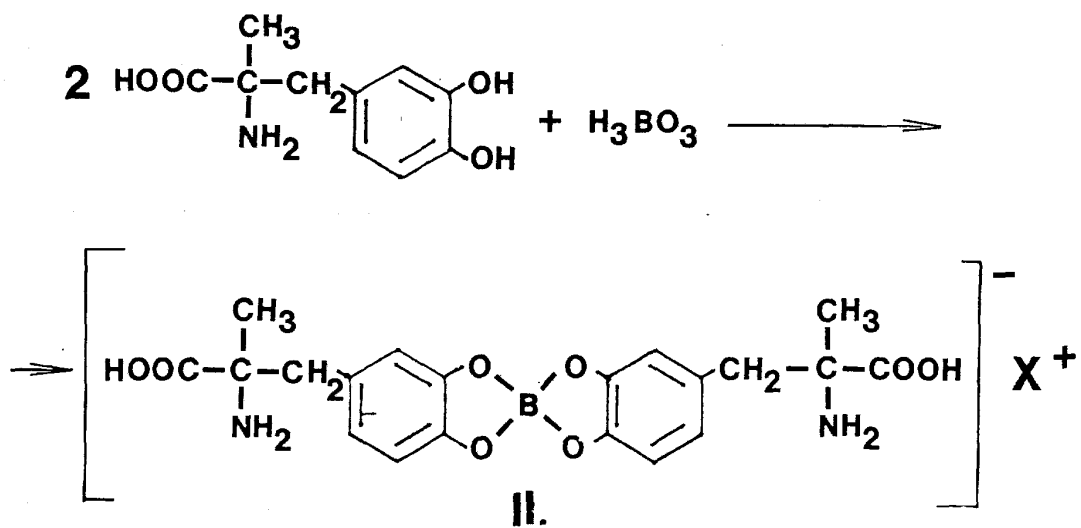
1. Eljárás L-3,4-dihidroxi-fenil-alfa-metil-alanint tartalmazó, előnyösen intravénásan befecskendezhető, infúzióban beadható vagy perorálisan adagolható gyógyászati oldat előállítására, azzal *jellemezve*, hogy a gyógyászati oldat tömegére számított 0,2–3,0% bórsav vizes oldatához 1–15% L-3,4-dihidroxi-fenil-alfa-metil-alanint és 0,1–2% adalékanyagot adunk – ahol a feltüntetett mennyiségek a gyógyászati oldat végső tömegére vonatkoznak –, bázis hozzáadásával 7–8,5 közötti pH-értéket állítunk be, a kapott oldathoz kívánt esetben vizet és/vagy fiziológiás nátriumklorid-oldatot és/vagy vízzel elegyedő, gyógyászatiilag elfogadható szerves oldószert adunk a végső oldattömeg eléréséig, és az oldatot szűrésnek, előnyösen ultraszűrésnek vetjük alá.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal *jellemezve*, hogy bázisként szervesetlen bázist alkalmazunk.
3. A 2. igénypont szerinti eljárás azzal *jellemezve*, hogy szervesetlen bázisként nátriumhidroxidot alkalmazunk, célszerűen vizes oldatban.
4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, intravénásan befecskendezhető vagy infúzióban beadható oldat előállítására, azzal *jellemezve*, hogy bázis hozzáadásával 7,2–7,6 közötti pH-értéket állítunk be.

1 db ábra

A. reakcióvázlat



B. reakcióvázlat



Kiadja az Országos Találmányi Hivatal
A kiadásért felel: Himer Zoltán osztályvezető
Megjelent a Műszaki Könyvkiadó gondozásában
UNIPROP Reklám Kiszövetkezet – 267/87