

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **203449**

(21) Numer zgłoszenia: **361799**

(13) **B1**

(22) Data zgłoszenia: **20.12.2001**

(51) Int.Cl.

(86) Data i numer zgłoszenia międzynarodowego:

A61K 47/48 (2006.01)

20.12.2001, PCT/IB01/02605

A61K 31/565 (2006.01)

(87) Data i numer publikacji zgłoszenia międzynarodowego:

27.06.2002, WO02/49675

PCT Gazette nr 26/02

(54)

**Kompozycja zawierająca kompleks estrogenu z cyklodekstryną,
sposób jej wytwarzania oraz zastosowanie kompleksu i kompozycji**

(30) Pierwszeństwo:

20.12.2000, EP, 00610135.6

20.12.2000, US, 60/256,484

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

04.10.2004 BUP 20/04

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.10.2009 WUP 10/09

(73) Uprawniony z patentu:

**Bayer Schering Pharma Aktiengesellschaft,
Berlin, DE**

(72) Twórca(y) wynalazku:

Thomas Backensfeld, Berlin, DE

Wolfgang Heil, Stelle, DE

Ralph Lipp, Berlin, DE

(74) Pełnomocnik:

**Surmiak Jan, Rzecznik Patentowy,
Kulikowska i Kulikowski**

PL 203449 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest kompozycja farmaceutyczna zawierająca kompleks estrogenu z cyklodekstryną, sposób wytwarzania kompozycji oraz zastosowanie kompleksu i kompozycji estrogenu z cyklodekstryną. Wynalazek znajduje zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, w wytwarzaniu preparatów o większej stabilności fizycznej kompleksów cyklodekstryna-estrogen oraz większej stabilności chemicznej estrogenów, takich jak etynyloestradiol, podczas przechowywania.

Degradacja estrogenów, takich jak etynyloestradiol, w stanowi w przypadku konwencjonalnych produktów farmaceutycznych jedno z najbardziej krytycznych zagadnień w odniesieniu do okresu przechowywania produktu. Stabilizację estrogenu można osiągnąć poprzez pakowanie produktu w hermetycznych pojemnikach bądź - skuteczniej, tak jak w niniejszym wynalazku - poprzez rzeczywistą stabilizację produktu farmaceutycznego.

Produkty farmaceutyczne zawierające naturalne lub syntetyczne hormony płciowe często zawierają niskie dawki tych aktywnych składników. Biorąc pod uwagę niewielką ilość aktywnego składnika, wymaganą dla pojedynczej dawki, znajdującą się często w zakresie 0,1-500 µg, problematyczne staje się wytworzenie preparatów w postaci jednostek dawkowanych z wiarygodnie stałą ilością aktywnego składnika, nie różniącą się od siebie w obrębie jednej serii lub pomiędzy różnymi seriami produktu. Nie można zatem spełnić wymogów jednorodności zawartości, stawianych przez organizacje nadzorujące opiekę zdrowotną.

Ponadto degradacja tych niewielkich ilości aktywnego składnika również przyczynia się do fluktuacji tego aktywnego składnika w preparatach zawierających jego niską dawkę.

Ogólnie te zawierające niską dawkę preparaty, zawierające niestabilne aktywne składniki, są problematyczne pod względem wytwarzania, przechowywania i stosowania i istnieje potrzeba zapewnienia sposobu stabilizacji takich preparatów.

Dla poprawy stabilności, rozpuszczalności lub biodostępności stosuje się powszechnie tworzenie kompleksów estrogenów z cyklodekstrynami. Np. EP 0 349 091 ujawnia kompozycje zawierające kompleksy 17-β-estradiolu z dimetylo-β-cyklodekstryną dla poprawy podawania drogą donosową, Fridriksdottir i wsp. (Die Pharmazie, tom 51, 1996, str. 39-42) opisują kompleksy cyklodekstryny z 17-β-estradiolem dla poprawy rozpuszczalności w roztworze wodnym, dzięki czemu poprawia się podawanie drogą podjęzykową. Poprawa stabilności stanowiła również przedmiot US 4596795, dotyczącego kompleksu pomiędzy α-, β- i γ-cyklodekstrynami i ich pochodnymi a testosteronem, progesteronem i estradiolem. US 4383992 ujawnia rozpuszczalny w wodzie związek włączeniowy wytworzony w wyniku połączenia w kompleks związku sterydowego, takiego jak estrogen, z beta-cyklodekstryną.

Ponadto US 5798338 ujawnia, że oksydacyjna degradacja 17-α-etynyloestradiolu jest mniejsza po wytworzeniu klatratów (kompleksów) pomiędzy β-cyklodekstryną a 17-α-etynyloestradiolem.

Jednakże chociaż tworzenie kompleksów estrogenów z cyklodekstrynami może rozwiązać krytyczne zagadnienia związane z rozpuszczalnością, biodostępnością i stabilnością, to zanim kompleksy aktywnych substancji, takich jak estrogeny i cyklodekstryny, będą mogły zostać zastosowane w produktach farmaceutycznych, konieczne jest rozwiązanie szeregu innych problemów. Problemy te polegają na tym, że kompleksy podatne są na dysocjację do postaci wolnego estrogenu i cyklodekstryny, szczególnie w przypadku kontaktu z wodą. Brak stabilności fizycznej kompleksów cyklodekstryna-estrogen prowadzi do znacznej ilości wolnego estrogenu obecnego w kompozycji w wyniku np. ekspozycji na środowisko wodne w procesie wytwarzania, zwłaszcza podczas granulacji. Wynikiem tego może być skrócenie okresu przydatności preparatu w wyniku degradacji wolnego estrogenu.

Ponadto nie uzyskuje się planowanej poprawionej biodostępności, do jakiej dąży się podczas tworzenia kompleksów estrogenu z cyklodekstryną, ze względu na fizyczną niestabilność kompleksu cyklodekstryna-estrogen i chemiczną niestabilność wolnego estrogenu.

Poczyniono różne próby celem ustabilizowania kompozycji zawierających kompleksy cyklodekstryny i estrogenu. Np. kompozycję można ustabilizować poprzez stabilizację samego kompleksu. US 4727064 podejmuje próbę stabilizacji kompleksów poprzez zastosowanie amorficznych postaci kompleksu. Alternatywnie kompleksy można stabilizować i zwiększać ich rozpuszczalność poprzez dodawanie polimerów do ośrodka reakcji podczas tworzenia kompleksów, jak ujawniają Loftsson i wsp. (Int. J. Pharmaceutics, tom 110, 1994, str. 169-177). EP 0579435 ujawnia również kompleksy estradiolu z cyklodekstrynami, w których dodatek polimerów do ośrodka reakcji zwiększa stałą stabilności kompleksu. Kompozycje można również stabilizować poprzez uniknięcie etapu granulacji w procesie ich wytwarzania, jak ujawnia WO 00/21570.

Kompozycje zawierające kompleks estrogenu z cyklodekstryną znane są z publikacji takich jak EP 0 349 091, US 4,727,064, EP 0 579 435 i WO 00/21570.

Publikacja EP 0 349 091 ujawnia kompozycję zawierającą estradiol i/lub progesteron w kombinacji z dimetylo- β -cyklodekstryną. Opisany tam preparat dotyczy kompozycji do nosa w postaci ciekłej.

W opisie patentowym US 4,727,064 ujawniono syntezy pewnych postaci cyklodekstryn i ich kompleksów z różnymi steroidami. Publikacja nie ujawnia jednak wprost kompozycji zawierającej kompleks estrogenu z cyklodekstryną.

W opisie patentowym EP 0 579 435 ujawniono kompozycję farmaceutyczną kompleksu estrogenu z cyklodekstryną z dodatkiem poliwinylpirolidonu w różnych stężeniach, nie większych jednak od 2%. Rozważa się tam pewne sposoby poprawiania rozpuszczalności słabo rozpuszczalnych substancji leczniczych, m.in. analizuje się rozpuszczalność hydrokortizonu w wodnym roztworze 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryny w obecności poliwinylpirolidonu występującego w różnych ilościach. Ujawniono sposób stabilizacji kompleksu estradiolu z cyklodekstrynami przez dodatek do środowiska reakcji polimerów, m.in. karkoksymetylozelulozy i poliwinylpirolidonu.

Z publikacji WO 00/21570 znany jest kompleks cyklodekstryny z gestagenem, a nie - jak w obecnym wynalazku kompleksu cyklodekstryny z estrogenem. Ponadto, w publikacji nic nie wspomina się o minimalizowaniu zawartości poliwinylpirolidonu (PVP) w kompozycji zawierającej kompleks estrogenu z cyklodekstryną. Natomiast wyraźnie się wskazuje na fakt, że jeśli kompozycja zawiera gestagen w postaci wolnego związku, a nie w postaci kompleksu z cyklodekstryną, to jest ona niestabilna w obecności PVP. W publikacji wskazuje się również, że po skompleksowaniu gestagenu z cyklodekstryną, jego stabilność wyraźnie się poprawia - nawet w obecności PVP. Ogólna wymowa publikacji WO 00/21570 jest zatem taka, że PVP może wchodzić w skład kompozycji zawierających gestagen, bez szkodliwego wpływu na jego stabilność pod warunkiem, że kompozycja zawiera gestagen w postaci kompleksu z cyklodekstryną.

Wymienione wyżej publikacje nie ujawniają jednakże kompozycji zawierającej kompleks estrogenu z cyklodekstryną w postaci stałej, a zwłaszcza w postaci granulatu, czy też wytworzonego w warunkach granulacji.

Istnieje zatem wyraźne zapotrzebowanie na proces wytwarzania stabilnych pod względem fizycznym kompleksów cyklodekstryny z estrogenem oraz na kompozycje poprawiające stabilność zarówno kompleksu, jak i wolnego estrogenu. Istnieje ponadto zapotrzebowanie na preparaty w postaci granulatu, umożliwiające stabilne pod względem fizycznym kompleksy cyklodekstryna-estrogen. Na przeciw wymienionym zapotrzebowaniom wychodzi obecny wynalazek.

Celem niniejszego wynalazku jest dostarczenie stabilnego i jednorodnego produktu farmaceutycznego zawierającego estrogen, w którym stabilność estrogenu uległa istotnej poprawie w porównaniu z produktami konwencjonalnymi, zawierającymi estrogen powiązany w kompleksy lub wrażliwe kompleksy cyklodekstryny z estrogenem. Degradacja estrogenów - takich jak etynyloestradiol - w konwencjonalnych produktach stanowi najbardziej krytyczne zagadnienie w odniesieniu do okresu przechowywania produktu.

Nieoczekiwanie odkryto, że produkty o zwiększonej stabilności estrogenu uzyskuje się poprzez łączenie estrogenu w kompleksy z cyklodekstrynami, dokładny wybór rozczynników i(lub) właściwe dostosowanie procesu wytwarzania. W wyniku tego wydłuża się okres przechowania produktu zawierającego estrogen. Wymienione aspekty zawarto w obecnym wynalazku który ujęto w składzie kompozycji, w sposobie wytwarzania kompozycji oraz w zastosowaniu kompleksu estrogenu z cyklodekstryną, których istotę przedstawiono poniżej.

Kompozycja według wynalazku, zawierająca kompleks estrogenu z cyklodekstryną w preparacie w postaci granulatu, oraz opcjonalnie jeden lub więcej rozczynników, charakteryzuje się tym, że wymieniony granulowany preparat zawiera poliwinylpirolidon w stężeniu nie większym niż 2% wag. przy czym kompozycja ma taką stabilność, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do wyjściowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i przy 75% wilgotności względnej (RH).

W wymienionej kompozycji estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), estradiol, sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu, bądź ich mieszaniny. Korzystnie, gdy estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu bądź ich mieszaniny, a najkorzystniej, gdy estrogenem jest etynyloestradiol.

Dla kompozycji według wynalazku korzystne jest, gdy cyklodekstryną wybrana jest z grupy obejmującej α -cyklodekstrynę, β -cyklodekstrynę, γ -cyklodekstrynę, i ich pochodne, a najkorzystniej gdy cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna lub jej pochodne.

Kompozycja może zawierać estrogen w ilości równoważnej terapeutycznie ekwiwalentnej ilości etynyloestradiolu, korzystnie w ilości od 0,002 do 2% wag.

Dla kompozycji korzystne jest, gdy estrogen znajduje się w ilości od 0,002 do 2% wag., korzystnie od 0,004 do 0,2% wag. jeszcze korzystnie od 0,008 do 0,1% wag., a najkorzystniej od 0,02 do 0,05% wag.

Dla kompozycji według wynalazku korzystnie jest, gdy estrogenem jest etynyloestradiol, a cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna, przy czym zawartość etynyloestradiolu w stosunku do kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna wynosi od 5 do 20% wag., korzystnie od 8 do 15% wag., a najkorzystniej od 9 do 13% wag. Korzystne jest też, gdy zawartość estrogenu w stosunku do cyklodekstryny jest taka, że stosunek molarny estrogenu do cyklodekstryny wynosi od 2:1 do 1:10, korzystnie od 1:1 do 1:5, a najkorzystniej od 1:1 do 1:3, tak jak 1:1 i 1:2.

Kompozycja według wynalazku może zawierać również jeden lub więcej terapeutycznie aktywnego składnika, korzystnie gdy jest nim progestagen. Progestagen może być wybrany jest z grupy obejmującej drospirenon, lewonorgestrel, norgestrel, gestoden, dienogest, octan cyproteronu, noretysteron, octan noretysteronu, dezogestrel, 3-keto-dezogestrel, a korzystnie gdy jest nim drospirenon, szczególnie drospirenon mikronizowany. Drospirenon może znajdować się w ilości od 0,4 do 20% wag., korzystnie w ilości od 0,8 do 10% wag., a najkorzystniej gdy jest on w ilości od 1,5 do 5% wag.

Dla kompozycji według wynalazku korzystne jest, gdy preparat w postaci granulatu ma wilgotność względną nie większą niż 55%, korzystnie nie większą niż 45%, a najkorzystniej gdy ma nie większą niż 40%, mierzoną w temperaturze od 20 do 40°C.

Korzystne jest też, gdy kompozycja według wynalazku zawiera poliwinylpirolidon w ilości nie większej niż 1% wag., korzystnie nie większej niż 0,5% wag., a najkorzystniej nie większej niż 0,2% wag., oraz gdy zawiera antyoksydant, a jeden lub więcej rozczynników wybranych jest z grupy obejmującej skrobię, celulozę, hydroksypropylocelulozę, hydroksypropylo-metylocelulozę i maltodekstrynę, a także gdy kompleks estrogenu z cyklodekstryną jest mikronizowany.

Sposób wytwarzania kompozycji według wynalazku, zawierający kompleks estrogenu z cyklodekstryną, w którym wytwarza się kompleks estrogenu z cyklodekstryną, załadowuje się kompleks oraz jeden lub więcej rozczynników, do granulatora, a także dodaje się płyn do załadowanego kompleksu oraz jeden lub więcej rozczynników, w warunkach granulacji, charakteryzuje się tym, że warunki granulacji są takie, iż uzyskuje się granulki o wilgotności względnej nie przekraczającej 60%, mierzonej w temperaturze od 20 do 40°C, i gdzie rozczynnikiem jest poliwinylpirolidon, obecny w kompozycji w ilości nie większej niż 2% wag.

Dla sposobu według wynalazku korzystne jest, gdy wilgotność względna preparatu w postaci granulatu nie przekracza 55%, korzystnie gdy nie przekracza 45%, a najkorzystniej gdy nie przekracza 40%, gdy mierzona jest w temperaturze od 20 do 40°C.

Równie korzystne jest, gdy estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), estradiol, sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczian estronu, bądź ich mieszaniny, a najkorzystniej jest, gdy estrogenem jest etynyloestradiol.

W sposobie według wynalazku korzystne jest, gdy stosuje się poliwinylpirolidonu w ilości nie większej niż 1% wag., korzystnie większej niż 0,5% wag., a najkorzystniej gdy jest ona nie większa niż 0,2% wag., a rozczynniki wybrane są z grupy obejmującej skrobię, celulozę, hydroksypropylocelulozę, hydroksypropylometylo-celulozę i maltodekstrynę.

Innym aspektem wynalazku jest kompozycja uzyskana wyżej opisanym sposobem.

Kolejnym aspektem wynalazku jest zastosowanie kompleksu estrogenu z cyklodekstryną, które charakteryzuje się tym, że kompleks estrogenu z cyklodekstryną stosuje się w antykoncepcji hormonalnej u kobiet, gdzie kompleks ma postać kompozycji zawierającej granulowany preparat tego kompleksu, i że kompozycja zawiera poliwinylpirolidon w ilości nie większej niż 2% wag., przy czym kompozycja ma taką stabilność, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do początkowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i wilgotności względnej (RH) wynoszącej 75%.

Kompozycje według niniejszego wynalazku można stosować jako leki. W związku z tym kompleks estrogenu z cyklodekstryną stosuje się do wytwarzania leku przeznaczonego do hormonalnej terapii zastępczej u kobiet, które to zastosowanie charakteryzuje się tym, że gdy lek zawiera kompozycję

zawierającą kompleks w postaci granulatu, oraz gdy preparat w postaci granulatu zawiera poliwinylpirolidon, to występuje on w stężeniu nie większym niż 2% wag., przy czym lek ten charakteryzuje się taką stabilnością, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do początkowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i wilgotności względnej (RH) wynoszącej 75%. Wymienione zastosowanie odnosi się również do kompozycji według wynalazku.

Określenie „kompleks” ma oznaczać kompleks estrogenu z cyklodekstryną, w którym cząsteczka estrogenu została co najmniej w części umieszczona wewnątrz jamy jednej cząsteczki cyklodekstryny. Ponadto cząsteczka estrogenu może być co najmniej w części umieszczona w jamie jednej lub większej liczby cząsteczek cyklodekstryny, a dwie domeny jednej cząsteczki estrogenu mogą zostać umieszczone w jednej cząsteczce cyklodekstryny, dając stosunek cyklodekstryny do estrogenu wynoszący 2:1. Kompleks można zatem określić jako kompleks włączeniowy (klatraty) pomiędzy estrogenem a cyklodekstryną. Podobnie kompleks zawierać może więcej niż jedną cząsteczkę estrogenu co najmniej w części umieszczoną w jednej lub więcej cząsteczce cyklodekstryny, gdzie np. 2 cząsteczki estrogenu są co najmniej częściowo umieszczone w jednej cząsteczce cyklodekstryny, dając stosunek cyklodekstryny do estrogenu wynoszący 1:2. Oczywiście możliwe są kompleksy, w których jedna cząsteczka estrogenu wchodzi w kompleks z jedną lub większą liczbą cząsteczek cyklodekstryny, np. 1 cząsteczka estrogenu połączona w kompleks z 2 lub 3 cząsteczkami cyklodekstryny. Typowo kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna, wytworzony według niniejszego wynalazku, jest korzystnie kompleksem jednej cząsteczki etynyloestradiolu z 2 cząsteczkami β -cyklodekstryny.

Określenie „kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna” lub „EE- β -CD” oznacza kompleks o dowolnym stosunku pomiędzy etynyloestradiolem a β -cyklodekstryną.

Określenie „preparat w postaci granulatu” oznacza preparat w postaci proszku, w którym wielkość cząstek zwiększa się podczas obróbki z płynem lub poprzez wyciskanie. Płynem może być dowolnego rodzaju rozpuszczalnik wodny lub organiczny bądź ich mieszaniny, opcjonalnie zawierające również substancję wiążącą, taką jak skrobia. W związku z tym „preparat w postaci granulatu” odnosi się w szerokim ujęciu do granulek, peletek i wyciskanego proszku lub dowolnej cząstki, wytworzonych poprzez granulację, peletkowanie lub wyciskanie proszku w taki sposób, że wytworzone cząstki mają wymiary około 100 μm .

Określenie „cyklodekstryna” oznacza cyklodekstrynę lub jej pochodną, a także mieszaniny różnych cyklodekstryn, mieszaniny różnych pochodnych cyklodekstryn i mieszaniny różnych cyklodekstryn i ich pochodnych. Cyklodekstryna jest ponadto określona według wynalazku.

Wynalazcy niniejszego wynalazku opracowali produkty, w których poprzez połączenie różnych środków uzyskano znaczną poprawę stabilności estrogenu. Jednym z takich środków jest ochrona estrogenu poprzez wytworzenie kompleksu z cyklodekstryną. Innym sposobem jest staranne dostosowanie procesu granulacji w taki sposób, aby np. ograniczyć dysocjację kompleksu do wolnego estrogenu i cyklodekstryny podczas tworzenia granulatu. Wynalazcy niniejszego wynalazku dostarczyli dane wskazujące, że kompleks etynyloestradiolu z β -cyklodekstryną jest mało stabilny po ekspozycji na wodę. W istocie w przypadku, w którym kompleks rozpuszcza się w wodzie, około 50% kompleksu ulega dysocjacji do wolnego etynyloestradiolu i cyklodekstryny w czasie 3 minut (patrz niniejszy przykład 6). Zatem, nie wiążąc się z żadną konkretną teorią, stabilność produktów ulega przynajmniej częściowej poprawie poprzez ograniczenie dysocjacji kompleksu do wolnego estrogenu w procesie wytwarzania, z ograniczeniem tym samym zawartości wolnego estrogenu w końcowym produkcie.

Jak już zaznaczono, niniejszy wynalazek prowadzi do stabilnych produktów zawierających wrażliwe kompleksy estrogenu z cyklodekstryną. Wyjściową ilość estrogenu należy rozumieć jako ważoną ilość estrogenu zawartego w kompozycji podczas wytwarzania gotowego preparatu.

W jednej postaci kompozycja ma postać tabletki wytworzonej poprzez bezpośrednie wyciśnięcie kompozycji.

Korzystnie kompozycja zawiera ograniczoną ilość poliwinylpirolidonu. W innej postaci z kompleksu estrogenu z cyklodekstryną wytworzony zostaje preparat w postaci granulatu.

Sposób poprawy stabilności estrogenu w takich preparatach i kompozycjach polega na dokładnym wyborze rozpuszczalników, w taki sposób, aby zminimalizować lub wyeliminować zawartość rozpuszczalników mogących indukować degradację etynyloestradiolu. Jednym z takich kluczowych rozpuszczalników jest poliwinylpirolidon, typowo stosowany jako środek wiążący dla granulacji w złożu fluidalnym. Jak ujawnia niniejszy wynalazek, etynyloestradiol jest związkiem wrażliwym na poliwinylpirolidon, który powoduje degradację istotnych ilości etynyloestradiolu w preparatach i kompozycjach, natomiast etynyloestradiol jest chroniony w postaci klatratu. Np. kompozycje zawierające poliwinylpirolidon i wytworzone jak

ujawniono w przykładzie 3 US 5798338 poprzez granulację w złożu fluidalnym charakteryzującą się niską stabilnością etynyloestradiolu. Wynalazcy niniejszego wynalazku odkryli, że w takiej kompozycji ilość etynyloestradiolu zmniejsza się o 25% w stosunku do zawartości wyjściowej po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i przy wilgotności względnej 75% (patrz tab. 1.4, przykład 1, tab. A). W związku z tym jeden aspekt wynalazku dotyczy kompozycji/preparatów o niskiej zawartości związków o wysokim potencjale oksydacyjnym, np. o potencjale oksydacyjnym przewyższającym lub zbliżonym do potencjału poliwinylpirolidonu. Np. kompozycje/preparaty według niniejszego wynalazku korzystnie zawierają mniej poliwinylpirolidonu niż kompozycje z przykładu 3 US 5798338. Korzystnie odpowiednio postacie niniejszego wynalazku odnoszą się do kompozycji/preparatów zawierających najwyżej 2% (stosunek wagowo-wagowy) poliwinylpirolidonu, korzystnie najwyżej 1% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie najwyżej 0,5% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystnie najwyżej 0,2% (stosunek wagowo-wagowy) poliwinylpirolidonu. Ponadto szczególnie interesujące postacie odnoszą się do kompozycji/preparatów zasadniczo pozbawionych poliwinylpirolidonu.

Zastosowanie powyższych sposobów, pojedynczo lub łącznie, spowodowało uzyskanie kompozycji, w których estrogen jest bardziej stabilny niż w konwencjonalnych kompozycjach zawierających poliwinylpirolidon, wytwarzanych poprzez bezpośrednie wyciskanie lub poprzez niewłaściwy proces granulacji w złożu fluidalnym. Uzyskane w ten sposób stabilne kompozycje charakteryzują się zawartością tego estrogenu na poziomie co najmniej 90% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 3 miesiące w temperaturze 40°C i 75% wilgotności względnej (RH). Korzystnie zawartość tego estrogenu wynosi co najmniej 92% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie co najmniej 94% (stosunek wagowo-wagowy), jeszcze korzystnie co najmniej 96% (stosunek wagowo-wagowy), a najkorzystnie co najmniej 98% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 3 miesiące w temperaturze 40°C i 75% wilgotności względnej (RH).

Kompozycje są również stabilne w wyższych temperaturach, np. w temperaturze 60°C i przy 75% wilgotności względnej, gdzie ta stabilność charakteryzuje się tym, że zawartość tego estrogenu, ustalona po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze 60°C i 75% wilgotności względnej (RH), wynosi 85% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu, korzystnie co najmniej 90% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie co najmniej 92% (stosunek wagowo-wagowy), jeszcze korzystnie co najmniej 94% (stosunek wagowo-wagowy), a najkorzystnie co najmniej 96% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu.

Co ważne, kompozycje według wynalazku są bardziej stabilne w warunkach otoczenia w porównaniu z konwencjonalnymi kompozycjami. Ujawnione kompozycje charakteryzują się wyższą stabilnością po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 25°C i przy 60% wilgotności względnej (RH), tak że ilość tego estrogenu jest równa co najmniej 95% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu. Korzystnie zawartość estrogenu wynosi co najmniej 96% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie co najmniej 97% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystnie co najmniej 98% (stosunek wagowo-wagowy) w stosunku do wyjściowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 25°C i przy 60% wilgotności względnej (RH).

Jak zauważy fachowiec, estrogen wybrać można z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), estradiol, sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron, estriol, bursztynian estriolu oraz estrogeny sprzężone, w tym sprzężone estrogeny końskie, takie jak siarczan estronu, siarczan 17 β -estradiolu, siarczan 17 α -estradiolu, siarczan ekwiliny, siarczan 17 β -dihydroekwiliny, siarczan 17 α -dihydroekwiliny, siarczan ekwileniny, siarczan 17 β -dihydroekwileniny, siarczan 17 α -dihydroekwileniny bądź ich mieszaniny. Szczególnie interesujące są estrogeny pochodzące z grupy, na którą składają się etynyloestradiol (EE), sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu lub ich mieszaniny, przede wszystkim etynyloestradiol (EE), walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu i sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu. Najkorzystniejszy jest etynyloestradiol (EE).

W korzystnej postaci, w której estrogenem jest etynyloestradiol (EE), dobrze znane są pewne produkty degradacji. Niestabilne kompozycje, np. te zawierające wrażliwy kompleks etynyloestradiolu z cyklodekstryną, utworzone tymi konwencjonalnymi sposobami granulacji, zawierają produkty degradacji etynyloestradiolu, w szczególności po przechowywaniu przez pewien czas. Ponadto, ponieważ w tych konwencjonalnych kompozycjach więcej etynyloestradiolu ulega degradacji niż w kompozycji opracowanej przez wynalazców niniejszego wynalazku (patrz przykład 2, tab. 1.3), konwencjonalne kompozycje mogą zawierać większe ilości tych produktów degradacji.

W związku z powyższym według jednej postaci niniejszego wynalazku stabilność jest taka, że suma molarna znanych produktów degradacji etynyloestradiolu wynosi najwyżej 0,8% w stosunku do wyjściowej zawartości etynyloestradiolu. Zatem w przypadku, gdy estrogenem jest etynyloestradiol, suma molarna produktów: 6- α -hydroksyetynyloestradiolu, 6- β -hydroksyetynyloestradiolu, 6-keto-hydroksyetynyloestradiolu, Δ 6,7-etynyloestradiolu oraz Δ 9,11-etynyloestradiolu wynosi najwyżej 0,8% w stosunku do wyjściowej molarnej zawartości etynyloestradiolu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 25°C i przy 60% wilgotności względnej (RH). Korzystnie suma molarna produktów wynosi w tych warunkach przechowywania najwyżej 0,7%, a najkorzystniej najwyżej 0,6%.

Ponadto stabilność jest taka, że suma molarna produktów: 6- α -hydroksyetynyloestradiolu, 6- β -hydroksyetynyloestradiolu, 6-keto-etynyloestradiolu, Δ 6,7-etynyloestradiolu oraz Δ 9,11-etynyloestradiolu wynosi najwyżej 3% w stosunku do wyjściowej molarnej zawartości etynyloestradiolu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i przy 75% wilgotności względnej (RH). Korzystnie suma molarna produktów wynosi w tych warunkach przechowywania najwyżej 2%, a najkorzystniej najwyżej 0,6%.

Jak zaznaczono, celem niniejszego wynalazku jest dostarczenie kompozycji/preparatu farmaceutycznego, zawierającego kompleks estrogenu z cyklodekstryną, w którym stabilność tego estrogenu jest istotnie wyższa w porównaniu z kompozycjami/preparatami konwencjonalnymi. Dla dalszej poprawy stabilności lub zapewnienia stabilności postaci wynalazku kompozycja/preparat zawiera również antyoksydant. Antyoksydant może zostać umieszczony w preparacie w postaci granulatu lub dodany do kompozycji jako dodatkowy rozpuszczalnik.

Cyklodekstrynę wybrać można z grupy, na którą składają się α -cyklodekstryna, β -cyklodekstryna, γ -cyklodekstryna oraz ich pochodne. Cyklodekstrynę można modyfikować w taki sposób, aby niektóre z lub wszystkie pierwszo- i(lub) drugorzędowe grupy hydroksylowe makrocyklu uległy alkilacji lub acylacji. Sposoby modyfikacji tych alkoholi są dobrze znane fachowcom, a wiele z nich jest dostępnych na rynku. Niektóre z lub wszystkie grupy hydroksylowe cyklodekstryny mogą zostać podstawione grupą O-R lub O-C(O)-R, gdzie R jest opcjonalnie podstawiony C₁₋₆ alkilem, opcjonalnie podstawiony C₂₋₆ alkenylem, opcjonalnie podstawiony C₂₋₆ alkinylem, opcjonalnie podstawiony grupą aryłową lub heteroaryłową. R może w związku z tym być grupą metylową, etylową, propylową, butylową, pentylową lub heksylową. W związku z tym O-C(O)-R może być octanem. Ponadto, w powszechnie stosowanej grupie 2-hydroksyetylowej lub 2-hydroksypropylowej R można stosować do uzyskania pochodnych cyklodekstryny. Ponadto alkohole cyklodekstrynowe mogą być benzylowane w pozycji per, benzoilowane w pozycji per, bądź benzylowane lub benzoilowane po jednej stronie makrocyklu bądź gdzie benzylocji lub benzoilacji ulegają jedynie hydroksyle 1,2,3,4,5 lub 6. Oczywiście alkohole cyklodekstrynowe mogą być alkilowane lub acylowane w pozycji per, np. metylowane lub acetylowane w pozycji per bądź alkilowane lub acylowane, np. metylowane lub acylowane tylko po jednej stronie makrocyklu bądź gdzie metylacji lub acylacji ulegają jedynie hydroksyle 1,2,3,4,5 lub 6. Kompleks estrogen-cyklodekstryna można uzyskać sposobami znanymi fachowcom (np. US 5798338).

Kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna można również uzyskać poprzez ko-precypitację w następujący sposób: etynyloestradiol rozpuszcza się w etanolu, β -cyklodekstryna rozpuszcza się w temperaturze 45°C w wodzie; roztwór etynyloestradiolu dodaje się do roztworu β -cyklodekstryny; uzyskaną zawiesinę miesza się przez kilka godzin w temperaturze 20-25°C, a następnie w temperaturze 2°C; produkt krystalizacji izoluje się i suszy.

Alternatywnie kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna można uzyskać w następujący sposób: etynyloestradiol rozpuszcza się w acetonie; β -cyklodekstrynę rozpuszcza się w temperaturze 45°C w wodzie; roztwór etynyloestradiolu dodaje się do roztworu β -cyklodekstryny; uzyskaną zawiesinę miesza się przez kilka godzin w temperaturze poniżej 25°C, a następnie produkt krystalizacji izoluje się i suszy.

Korzystnie kompleks cyklodekstryny z estrogenem może charakteryzować się pewnym stopniem lipofilności (hydrofobowości). Odpowiednie postacie wynalazku dotyczą kompleksu o współczynniku podziału n-oktanol/woda wynoszącym przy pH 7 od 2 do 5, korzystnie około 3-4. Inne interesujące postacie zawierają kompleks w postaci krystalicznej. W związku z tym w ograniczonym aspekcie wynalazek dotyczy krystalicznych kompleksów estrogenu i cyklodekstryny. Określenie „krystaliczny” dotyczy różnych modyfikacji struktury fizycznej związku, gdzie część związku może znajdować się w postaci amorficznej. Związki krystaliczne mogą charakteryzować się uwodnieniem i zawartością wody krystalicznej. Kompleksy można wreszcie określić podanymi tutaj przykładami, jak uwodnione kompleksy ujawnione w przykładzie 12. Ponadto kompleks krystaliczny może zawierać części wolnego etynyloestradiolu i wolnej cyklodekstryny.

Korzystnie kompleks zawiera β -cyklodekstrynę lub jej pochodną, najkorzystniej β -cyklodekstrynę. Zatem w szczególnie korzystnej postaci wynalazku, stanowiącej połączenie korzystnych postaci, estrogenem jest etynyloestradiol a cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna.

W alternatywnej postaci wynalazku kompozycja zawiera również jeden lub więcej terapeutycznie aktywnych środków. W tej postaci kompozycja zawiera także progestagen. Progestagen wybrać można z grupy, na którą składają się: drospirenon, lewonorgestrel, norgestrel, gestoden, dienogest, octan cyproteronu, noretysteron, octan noretysteronu, dezogestrel, 3-keto-dezogestrel. Korzystnym progestagenem jest jednakże drospirenon.

W korzystnej postaci, w której terapeutycznie aktywną substancją jest drospirenon, ten drospirenon może opcjonalnie być w postaci mikronizowanej. W korzystnej postaci, w której terapeutycznie aktywną substancją jest drospirenon, cały lub zasadniczo cały drospirenon może występować w kompleksie z cyklodekstryną. Jak zauważy fachowiec, dysocjacja kompleksu drospirenon-cyklodekstryna może prowadzić do uzyskania mieszaniny cyklodekstryny powiązanej w kompleks z drospirenonem oraz nie powiązanego w kompleks (wolnego) drospirenonu. Tak jak w przypadku drospirenonu nie powiązanego w kompleks, drospirenon powiązany w kompleks również może być w postaci mikronizowanej.

Zatem korzystna postać wynalazku dotyczy kompozycji/preparatu, w którym estrogenem jest etynyloestradiol, a dodatkowym aktywnym terapeutycznie środkiem jest drospirenon. Inna interesująca postać to taka, w której zarówno kompleks estrogen-cyklodekstryna, jak i drospirenon, są w postaci mikronizowanej.

Jak zaznaczono, kompozycje i preparaty zawierają niewielkie dawki aktywnej substancji, tak że typowe postacie wynalazku zawierają estrogen w ilości terapeutycznie równoważnej około 0,002-2% (stosunek wagowo-wagowy) etynyloestradiolu.

W jeszcze innych typowych postaciach kompozycje/preparaty zawierają estrogen, etynyloestradiol, w ilości około 0,002-2% (stosunek wagowo-wagowy). Korzystnie ilość ta wynosi około 0,004-0,2% (stosunek wagowo-wagowy), korzystniej około 0,008-0,1% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystniej około 0,02-0,05% (stosunek wagowo-wagowy).

Biorąc pod uwagę ilość cyklodekstryny, tak jak w korzystnych postaciach, w których estrogenem jest etynyloestradiol, a cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna, zawartość etynyloestradiolu w stosunku do kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna wynosi około 5-20% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie około 8-15% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystniej około 9-13% (stosunek wagowo-wagowy).

Ponadto według wynalazku stosunek estrogenu do cyklodekstryny można zmieniać. Zatem w odpowiednich postaciach zawartość estrogenu w stosunku do cyklodekstryny jest taka, że stosunek molarny estrogenu do cyklodekstryny wynosi około 2:1-1:10, korzystnie około 1:1-1:5, najkorzystniej około 1:1-1:3, jak 1:1 i 1:2.

W postaciach, w której kompozycja zawiera również terapeutycznie aktywny związek, a związkiem tym jest drospirenon, znajduje się on w ilości około 0,4-20% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie około 0,8-10% (stosunek wagowo-wagowy), korzystniej około 1,5-5% (stosunek wagowo-wagowy).

Kolejnym celem wynalazku jest dostarczenie kompozycji lub preparatu, zgodnie z niniejszym opisem, umieszczonych w postaci jednostki dawkowanej, korzystnie w postaci tabletki, kapsułki lub saszetki.

Typowa postać wynalazku dotyczy kompozycji lub preparatu w postaci granulek, peletek lub suchych wyciskanych mieszanek, którymi można napełniać twarde kapsułki żelatynowe lub saszetki, bądź wytłaczać z nich rdzenie tabletek. W takim przypadku kompozycja lub preparat zawierają (% wagowo-wagowe):

- i) substancję aktywną: kompleks etynyloestradiolu i β -cyklodekstryn;
- ii) 0-95% (stosunek wagowo-wagowy) środków wypełniających, takich jak laktoza, skrobia, celuloza i(lub) inne
- iii) 0-15% (stosunek wagowo-wagowy) środków wiążących, takich jak skrobia, celuloza, hydroksypropyloceluloza, hydroksypropylometyloceluloza, maltodekstryna i(lub) inne;
- iv) 0-5% (stosunek wagowo-wagowy) środków poślizgowych, takich jak koloidalny dwutlenek krzemu i(lub) inne;
- v) 0-15% (stosunek wagowo-wagowy) środków rozdrabniających, takich jak skrobia, karmeloza wapniowa, usieciowana karmeloza sodowa, karboksymetyloskrobia sodowa i(lub) inne;
- vi) 0-5% (stosunek wagowo-wagowy) substancji stabilizujących/antyoksydantów, takich jak octan tokoferolu, glausan propylu, kwas askorbinowy, palmitynian askorbylu i(lub) inne; oraz
- vii) 0-5% (stosunek wagowo-wagowy) środków smarujących, takich jak stearynian magnezu i(lub) inne.

W postaci, w której kompozycja/preparat zawiera również terapeutycznie aktywny związek, taki jak progestagen, korzystnie drospirenon, typowy preparat może również zawierać 0,1-15% (stosunek wagowo-wagowy) drospirenonu.

Szczególnie interesująca postać dotyczy jednostki dawkowej zawierającej:

Drospirenon (mikronizowany)	3,00 mg
Etynyloestradiol w postaci klatratu z β -cyklodekstryną (mikronizowany)	0,02 mg*
Laktoza	48,18 mg**
Skrobia kukurydziana	28,00 mg
Stearynian magnezu	0,8 mg
Woda (środek pomocniczy podczas wytwarzania)	

*0,02 to stężenie etynyloestradiolu (bez uwzględnienia β -cyklodekstryny). Ilość etynyloestradiolu w klatracie z β -cyklodekstryną wynosi 9,5-12,5%.

** Ilość laktozy należy dostosować do ilości β -cyklodekstryny

Kolejny aspekt wynalazku dotyczy sposobu poprawy stabilności estrogenu w kompozycji farmaceutycznej, zawierającej estrogen oraz jeden lub więcej rozczynników w preparacie w postaci granulatu, który to sposób obejmuje następujące etapy: i) wytworzenie kompleksu tego estrogenu z cyklodekstryną oraz ii) zmieszanie w warunkach granulacji tego kompleksu wraz z jednym lub większą liczbą rozczynników w taki sposób, aby wilgotność względna ostatecznego granulatu nie przekraczała 60%, jak ustalono w temperaturze w granicach 20-40°C.

Jak opisano, ten sposób stabilizacji prowadzi do uzyskania kompozycji charakteryzujących się wyższą stabilnością niż ta, jaka cechuje kompozycje konwencjonalne. Ważne cechy, prowadzące do zwiększenia stabilności, są związane - przynajmniej w części - z procesem granulacji oraz właściwym doбором rozczynników. W związku z tym sposób zwiększenia stabilności dotyczy odpowiedniego dostosowania wilgotności względnej preparatu. Najważniejsze jest, aby wilgotność względna nie przekraczała 60% (jak ustalono w temperaturze w granicach 20-40°C). Korzystnie wilgotność względna nie przekracza 55%, korzystnie nie przekracza 45%, najkorzystnie nie przekracza 40% (jak ustalono w temperaturze w granicach 20-40°C).

W kolejnym aspekcie wynalazek dotyczy sposobu zwiększenia stabilności estrogenu w kompozycji farmaceutycznej, zawierającej estrogen oraz jeden lub więcej rozczynników, który to sposób obejmuje następujące etapy:

i) wytworzenie kompleksu tego estrogenu z cyklodekstryną
oraz

ii) dodanie rozczynników w takiej ilości, aby zminimalizować ogólną ilość rozczynników o potencjale oksydacyjnym wyższym od lub zbliżonym do potencjału oksydacyjnego poliwinylpirolidonu.

Celem jest ograniczenie lub zminimalizowanie zawartości w kompozycji/preparacie rozczynników o potencjale oksydacyjnym wyższym od lub zbliżonym do potencjału oksydacyjnego poliwinylpirolidonu. Zatem sposób stabilizacji dotyczy również ograniczenia zawartości rozczynników o potencjale oksydacyjnym wyższym od lub zbliżonym do potencjału oksydacyjnego poliwinylpirolidonu, w tym ograniczenia poliwinylpirolidonu. W związku z tym interesujące postacie wynalazku zawierają poliwinylpirolidon w ilości najwyżej 2% (stosunek wagowo-wagowy). Korzystnie zawartość ta wynosi najwyżej 1% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie najwyżej 0,5% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystnie najwyżej 0,2% (stosunek wagowo-wagowy). W bardzo korzystnej postaci sposób zwiększania stabilności polega na wykluczeniu poliwinylpirolidonu z kompozycji farmaceutycznej. Zatem sposób stabilizacji estrogenu w kompozycji farmaceutycznej opiera się na kompozycji/preparacie zasadniczo nie zawierających poliwinylpirolidonu.

Jeszcze innym celem wynalazku jest dostarczenie procesu wytwarzania kompozycji i preparatów, charakteryzujących się opisaną powyżej stabilnością i jednorodnością. Odpowiednie warunki procesu obejmują etapy wytworzenia płynu do granulacji, załadowanie aktywnych składników oraz jednego lub większej liczby rozczynników do odpowiedniego urządzenia do granulacji, granulację oraz suszenie. W korzystnej postaci uzyskane w ten sposób granulki mają wilgotność względną najwyżej 60%.

W związku z tym wynalazek dotyczy procesu produkcji preparatu w postaci granulatu, zawierającego kompleks estrogenu z cyklodekstryną, który to proces produkcji składa się z następujących etapów:

i) załadowania kompleksu oraz jednego lub więcej rozczynników do granulatora
ii) dodania do załadowanego kompleksu i jednego lub więcej rozczynników w warunkach granulacji płynu z uzyskaniem granulek o wilgotności względnej nie przekraczającej 60%, jak ustalono w temperaturze w granicach 20-40°C.

Proces ten prowadzi do uzyskania nowych kompozycji, zawierających mniej zdegradowanego estrogenu i mniej produktów degradacji w porównaniu z kompozycjami wytwarzanymi z zastosowaniem konwencjonalnych procesów, takich jak techniki granulacji z zastosowaniem poliwinylolipirolidonu i(lub) techniki, w których nie dostosowano w odpowiedni sposób wilgotności względnej.

Zatem w korzystnych postaciach wynalazku warunki granulacji znajdują się pod jeszcze ściślejszą kontrolą, tak że wilgotność względna granulatu nie przekracza 55%, korzystnie nie przekracza 45%, najkorzystniej nie przekracza 40%, jak ustalono w temperaturze w granicach 20-40°C. Ograniczona jest ponadto ilość poliwinylolipirolidonu.

Jak zaznaczono, preparat zawiera niskie dawki aktywnych środków, w szczególności kompleksu etynyloestradiol-cyklodekstryna. Dlatego krytycznie ważne jest uzyskanie jednorodnych preparatów oraz spełnienie wymogów jednorodności zawartości. Ważnym zagadnieniem do rozważenia podczas wytwarzania kompozycji/preparatów zawierających niskie dawki aktywnego składnika jest zatem jednorodność preparatu w postaci granulatu. Powszechnie stosowana praktyka podczas wytwarzania preparatów zawierających niską dawkę aktywnego składnika polega na stosowaniu wstępnych mieszanek aktywnego składnika z rozczynnikami, np. laktozą. Tę wstępną mieszanę wytwarza się zazwyczaj w oddzielnym etapie mieszania. Jednakże wynalazcy niniejszego wynalazku opracowali proces wytwarzania preparatów zawierających niskie dawki bez stosowania etapu wstępnego mieszania aktywnego składnika z odpowiednim rozczynnikiem.

W związku z tym interesująca postać wynalazku dotyczy opisanego powyżej sposobu, w którym kompleks oraz opcjonalnie dodatkowo jeden lub więcej z terapeutycznie aktywnych składników dostarczany jest jako poszczególny składnik bez wstępnego mieszania z rozczynnikami. W innej powiązanej postaci do granulatora dodawany jest również jeden lub więcej z terapeutycznie aktywnych składników, np. drospirenon.

Jak zaznaczono, odpowiednio dostosowany proces według wynalazku prowadzi do wytworzenia jednorodnych serii preparatu w postaci granulatu. W przypadku, gdy proces prowadzi także do uzyskania jednostek dawkowanych, takich jak tabletki, uzyskuje się jednorodność zawartości. Zatem w bardzo odpowiednich postaciach wynalazku partie ostatecznego granulatu i(lub) gotowych jednostek dawkowanych charakteryzują się jednorodnością zawartości w zakresie 85-115%, korzystnie w zakresie 90-110%, korzystniej w zakresie 95-105%. Jednorodność zawartości ustala się poprzez losowe pobranie 10 próbek preparatu w postaci granulatu lub losowe pobranie 10 tabletek z serii, określenie ilościowej zawartości estrogenu w każdej z badanych próbek lub tabletek oraz na koniec obliczenie współczynnika zmienności w oparciu o poszczególne zawartości estrogenu.

Niskie dawki powoływane w tym kontekście dotyczą kompozycji/preparatów zawierających kompleks w ilości około 0,005-20% (stosunek wagowo-wagowy), korzystnie około 0,01-2% (stosunek wagowo-wagowy), korzystniej około 0,05-1% (stosunek wagowo-wagowy), jeszcze korzystniej około 0,1-0,7% (stosunek wagowo-wagowy), najkorzystniej około 0,15-0,5% (stosunek wagowo-wagowy).

Granulację można prowadzić przy użyciu dowolnego sprzętu, pozwalającego na uzyskanie stabilnego i jednorodnego granulatu według wynalazku. Oznacza to każdy sprzęt odpowiedni do uzyskania granulek o wilgotności względnej najwyżej 60% w temperaturach w zakresie 20-40°C. Jednakże w korzystnej postaci warunki granulacji uzyskuje się poprzez granulację w złożu fluidalnym.

Kolejny przedmiot wynalazku dotyczy stosowania kompozycji opisanych tutaj oraz w przykładach w wytwarzaniu leku do stosowania jako środek antykoncepcyjny dla kobiet, środek w hormonalnej terapii zastępczej lub w leczeniu trądziku lub PMDD (zespołu dysfunkcji przedmiesiączkowej).

Stosowanie związku według niniejszego wynalazku w hormonalnej terapii zastępczej dotyczy leczenia u kobiety objawów menopauzy, objawów przed- i(lub) pomenopauzalnych. Lek ma odpowiednio postać zgodną z ogólną wiedzą fachowca, typowo postać przeznaczoną do stosowania doustnego.

W korzystnej postaci lek jest odpowiedni do hamowania owulacji u kobiety. Poza zdolnością do hamowania owulacji odkryto, że kompozycja według wynalazku charakteryzuje się wyraźnymi właściwościami antyandrogenowymi, w związku z czym można ją stosować w prewencji lub leczeniu chorób wywołanych androgenami, w szczególności trądziku. Takie zastosowanie może być niezależne od lub uzupełniające w stosunku do stosowania w ujawnionych powyżej celach antykoncepcji. Ponadto, ponieważ drospirenon jest antagonistą aldosteronu, charakteryzuje się właściwościami diuretycznymi i jest w związku z tym odpowiedni do przeciwdziałania zatrzymującym wodę działaniom etynyloestradiolu.

Jak zaznaczono, stosowanie kompozycji w wytwarzaniu leku przeznaczonego do podawania doustnego korzystnie obejmuje stosowanie kompozycji zawierających kompleks etynyloestradiolu z β -cyklodekstryną oraz terapeutycznie aktywną substancję. Najkorzystniej substancją tą jest drospirenon.

W połączeniu z korzystnymi postaciami dawka etynyloestradiolu wynosi 0,015-0,04 mg, w szczególności około 0,015-0,03 mg, a dawka drospirenonu wynosi około 2,5-3,5 mg, w szczególności około 3 mg dla dziennej jednostki dawkowanej. Konkretniej kompozycje według wynalazku zawierają drospirenon w dziennej jednostce dawkowanej w ilości odpowiadającej około 3,0-3,5 mg, a etynyloestradiol w ilości odpowiadającej około 0,015-0,03 mg.

Lek do stosowania w hamowaniu owulacji może być kompozycją jednofazową, tzn. preparatem, w którym ilości każdego z aktywnych składników znajdują się na stałym poziomie w okresie co najmniej 21 dni bądź ilość jednego lub obu aktywnych składników może zmieniać się w okresie co najmniej 21 dni, stanowiąc preparat wielofazowy, np. dwu- lub trójfazowy, zasadniczo jak ujawniono np. w EP 148724.

W interesującej postaci niniejszego wynalazku, dotyczącej zastosowania leku do hamowania owulacji, lek podaje się każdego dnia przez co najmniej 21 kolejnych dni, gdzie dzienna jednostka dawkowana zawiera połączenie drospirenonu w ilości około 2-4 mg z etynyloestradiolem w ilości około 0,01-0,05 mg, po czym następuje codzienne podawanie przez 7 lub mniej kolejnych dni dziennej jednostki dawkowanej nie zawierającej aktywnego składnika bądź alternatywnie - niestosowanie jednostek dawkowanych przez 7 lub mniej dni.

W kolejnej odpowiedniej postaci każdą dzienną jednostkę dawkowaną zawierającą połączenie drospirenonu z etynyloestradiolem należy podawać przez 21, 22, 23 lub 24 kolejne dni, a każdą z dziennych jednostek dawkowanych nie zawierających aktywnego składnika można podawać przez 7, 6, 5 lub 4 kolejne dni, w zależności od potrzeb. Ponadto dzienne jednostki dawkowane zawierające połączenie drospirenonu z etynyloestradiolem można podawać przez 28 kolejnych dni lub 30 bądź 31 kolejnych dni. Odpowiednio stosowanie tego leku obejmuje podawanie każdego dnia przez co najmniej 21 kolejnych dni dziennej jednostki dawkowanej zawierającej połączenie drospirenonu w ilości około 2-4 mg z etynyloestradiolem w ilości około 0,01-0,05 mg, po czym następuje podawanie każdego dnia przez 7 lub mniej kolejnych dni dziennej jednostki dawkowanej zawierającej etynyloestradiol w ilości około 0,01-0,05 mg.

W tym alternatywnym sposobie dzienne jednostki dawkowane zawierające połączenie drospirenonu z etynyloestradiolem można odpowiednio podawać przez 21, 22, 23 lub 24 kolejne dni, a dzienne jednostki dawkowane zawierające sam etynyloestradiol można podawać przez 7, 6, 5 lub 4 kolejne dni, w zależności od potrzeb. W kolejnej postaci sposobu dzienne jednostki dawkowane zawierające połączenie drospirenonu z etynyloestradiolem podaje się 2-4, korzystnie 2 lub 3 razy w ciągu 28 kolejnych dni, po czym następuje podawanie dziennych jednostek dawkowanych zawierających połączenie drospirenonu z etynyloestradiolem przez 21 kolejnych dni, a następnie podawanie dziennych jednostek dawkowanych zawierających sam etynyloestradiol przez 7 kolejnych dni.

Niniejszy wynalazek zostanie dalej zdefiniowany przykładami.

Skrócony opis przykładów

Przykład 1 ujawnia produkt farmaceutyczny według niektórych postaci niniejszego wynalazku wraz z produktami farmaceutycznymi znanymi fachowcom. Tabela 1.3 przedstawia stabilność w porównaniu ze znanymi preparatami po stałym okresie czasu w kontrolowanych warunkach środowiska. Dane pokazują, że bezpośrednie wyciśnięcie mieszaniny proszku prowadzi do dużej stabilności etynyloestradiolu znajdującego się w kompleksie z cyklodekstryną (produkt D). Produkt E wytworzono według niniejszego wynalazku w taki sposób, że nie zawiera poliwinylpirolidonu. Produkt ten również charakteryzuje się wysoką stabilnością etynyloestradiolu pomimo wytworzenia poprzez granulację. Jednakże w przypadku, gdy produkt zawiera poliwinylpirolidon i jest wytwarzany według przykładu 3 US 5798338 (Tabletka A), jego stabilność jest niska.

Przykład 2 przedstawia stabilność EE w preparatach D i E w porównaniu z innymi preparatami pod względem produktów rozpadu izolowanych z próbek po przechowywaniu przez stały okres czasu w kontrolowanych warunkach środowiska.

Przykład 3 ujawnia zawartość jednej postaci niniejszego wynalazku, gdzie kompozycja zawiera również drospirenon.

Przykład 4 opisuje morfologię lub pewne właściwości fizyczne typowej postaci dawkowanej preparatu według niniejszego wynalazku.

Przykład 5 ujawnia typowy proces wytwarzania tabletki.

Przykład 6 opisuje sposób, w jaki badano pewne właściwości fizyczne, tzn. stałą szybkości reakcji stałej dysocjacji kompleksu EE z CD. Ustalono, że okres półtrwania kompleksu 1:1 wynosi 155,8 sek., a stała dysocjacji $4,45 \times 10^{-3} \text{s}^{-1}$.

Przykład 7 opisuje sposób, w jaki badano stałą stabilności w stanie równowagi (stałą tworzenia) kompleksu EE z CD. Ustalono, że stała stabilności kompleksu 1:1 wynosi $9,5 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$. Stwierdzono, że rozpuszczalność estradiolu w postaci kompleksu była wyższa w porównaniu z wolnym steroidem.

Przykład 8 opisuje sposób, w jaki badano stałą stabilności w stanie równowagi (stałą tworzenia) kompleksu EE z CD w ośrodku kwaśnym. Ujawniono stałą stabilności kompleksu 1:1 i 1:2 w ośrodku kwaśnym. Stwierdzono, że rozpuszczalność estradiolu w postaci kompleksu była wyższa w porównaniu z wolnym steroidem w ośrodku kwaśnym.

Przykład 9 ujawnia sposób, w którym ustalono, że stała dysocjacji kwasu (pK_a) kompleksu EE-CD w środowisku wodnym wynosi około 10,51 w porównaniu z wartością pK_a wolnego sterydu, wynoszącą około 10,25.

Przykład 10 opisuje sposób, w którym ustalono współczynnik podziału n-oktanol-woda kompleksu EE-CD oraz zależność tego współczynnika od pH. Jego wartość $\log P$ znajduje się w zakresie 3,20-5,53.

Przykład 11 omawia, czy kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna może występować w mnogim stanie stałym oraz dostarcza sposoby testowania, dzięki którym można wykryć i rozróżnić takie postacie.

Przykład 12 opisuje typowe sposoby wytwarzania kompleksu EE-CD.

Przykłady

P r z y k ł a d 1

Degradacja etynyloestradiolu w różnych preparatach

Badano porównawczą stabilność pięciu preparatów w postaci tabletek zawierających etynyloestradiol. Różne preparaty różniły się pomiędzy sobą pod względem procesu wytwarzania, stosowania etynyloestradiolu w postaci kompleksu z cyklodekstryną oraz stosowania poliwinylpirolidonu 25.000 (PVP). Tabletkę A wytworzono w sposób ujawniony w US 5798338, przykład 3, poprzez granulację w złożu fluidalnym w oparciu o wstępne zmieszanie aktywnego składnika z laktozą i bez dostosowania wilgotności względnej granulek. Tabletki B, C i E wytworzono zgodnie z ujawnionym tutaj procesem wytwarzania.

T a b e l a 1.1

Podsumowanie parametrów tabletek powlekanych błoną			
Tabletka	Proces wytwarzania	Aktywny składnik	Rozczynniki
A	Granulacja w złożu fluidalnym*	Kompleks EE- β -CD	+ PVP
B	Granulacja w złożu fluidalnym**	EE	+ PVP
C	Granulacja w złożu fluidalnym* *	EE	
D	Bezpośrednie wyciskanie	Kompleks EE- β -CD	
E	Granulacja w złożu fluidalnym**	Kompleks EE- β -CD	

*Granulacja w złożu fluidalnym jak ujawniono w przykładzie 3 US 5798338,

**granulacja w złożu fluidalnym jak ujawniono w niniejszym przykładzie 5; PVP = poliwinylpirolidon.

T a b e l a 1.2

Skład badanych preparatów					
Skład	Tabletki				
	A	B	C	D	E
1	2	3	4	5	6
EE	-	√	√	-	-
EE- β -CD	√	-	-	√	√
DRSP	-	√	√	√	√
Laktoza		√	√	√	√

cd. tabeli 1.2

1	2	3	4	5	6
Skrobia kukurydziana	√	√	√	√	√
Mikroceluloza	-	-	-	√	-
Skrobia 1500	√	√	-	-	-
PVP 25.000	√	√	-	-	-
Stearynian Mg	√	√	√	√	√

Wyniki

Zawartość etynyloestradiolu ustalono przy pomocy HPLC tuż po wytworzeniu (start) oraz po przechowywaniu w różnych warunkach przez 3-12 miesięcy. Zawartość etynyloestradiolu wyrażono względem wyjściowej zawartości etynyloestradiolu, jaką dodano do każdego preparatu.

T a b e l a 1.3

Zawartość etynyloestradiolu (% odzyskanej)					
Preparat	Start	3 miesiące		12 miesięcy	
		40°C, 75% RH	60°C, 75% RH	25°C, 60% RH	40°C, 75% RH
A	93,1	86,3	77,8	93,8	75,9
B	98,9	94,9	70,7	95,6	85,7
C	100,1	95,8	86,1	100,1	92,1
	99,1	96,2	86,1	99,1	92,1
D	101,5	98,8	96,4	101,4	99,9
	102,7	100,7	98,6	101,8	100,0
E	103,2	101,3	96,4	100,5	98,9
	103,3	102,0	96,6	101,8	99,3

P r z y k ł a d 2

Powstawanie produktów oksydacyjnej degradacji etynyloestradiolu

Zawartość znanych produktów oksydacyjnej degradacji etynyloestradiolu ustalono przy pomocy HPLC po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 25°C i przy 60% wilgotności względnej (RH). Molarna zawartość każdego z produktów degradacji wyrażono w odniesieniu do wyjściowej zawartości molarnej etynyloestradiolu, dodanego do każdego z preparatów. Badano cztery preparaty oraz czysty etynyloestradiał i kompleks etynyloestradiał-β-cyklodekstryna.

T a b e l a 2.1

Wyniki stabilności po 12 miesiącach, 25°C, 60% RH

Powstawanie produktów degradacji (% wyjściowej zawartości EE)					
Preparaty	6-α-OH-EE	6-β-OH-EE	6-keto-EE	Δ9,11-EE	Łącznie znanych
EE	0,004	0,005	n.d.	0,38	0,389
EE-β-CD	0,002	0,003	n.d.	0,38	0,385
B	0,04	0,07	0,32	0,74	1,20
C	0,05	0,09	0,11	0,73	1,00
	0,04	0,07	0,08	0,70	0,91
D	0,01	0,02	n.d.	0,49	0,52
	0,01	0,01	n.d.	0,45	0,47
E	0,03	0,01	n.d.	0,46	0,50
	0,02	0,01	n.d.	0,40	0,43

n.d. = niewykrywalny, 6- α -EE = 6- α -hydroksy-etynyloestradiol, 6- β -EE = 6- β -hydroksy-etynyloestradiol, 6-keto-EE = 6-keto-etynyloestradiol, Δ 9,11-EE = Δ 9,11-etynyloestradiol

T a b e l a 2.2
Wyniki stabilności po 12 miesiącach, 40°C, 75% RH

Powstawanie produktów degradacji (% wyjściowej zawartości EE)					
Preparaty	6- α -OH-EE	6- β -OH-EE	6-keto-EE	Δ 9,11-EE	Łącznie znanych
EE	0,004	0,005	n.d.	0,38	0,389
EE- β -CD	0,002	0,003	n.d.	0,38	0,385
B	0,16	0,25	1,92	3,14	5,47
C	0,33 0,28	0,61 0,54	1,03 0,87	1,86 1,59	3,83 3,28
D	0,03 0,03	0,09 0,10	0,10 0,09	0,79 0,79	1,01 0,98
E	0,08 0,08	0,19 0,19	0,30 0,41	0,93 0,89	1,50 1,58

n.d. = niewykrywalny, 6- α -EE = 6- α -hydroksy-etynyloestradiol, 6- β -EE = 6- β -hydroksy-etynyloestradiol, 6-keto-EE = 6-keto-etynyloestradiol, Δ 9,11-EE = Δ 9,11-etynyloestradiol

P r z y k ł a d 3

Opisano typowe kompozycje stanowiące rdzeń tabletek. Rdzeń tabletek może zostać opcjonalnie powleczoney błonką lub cukrem z zastosowaniem opisanych składników. Konkretnie składniki są typowymi odpowiednimi składnikami według wynalazku, ale nie tylko.

T a b e l a 3

Składnik	Konkretnie składniki	Ilość % (stosunek wagowo-wagowy)
1	2	3
Rdzeń tabletki:		
Aktywny składnik I	Estrogeny w postaci kompleksu z cyklodekstryną	
Aktywny składnik II	Progestagen	
Wypełniacz	Laktoza, skrobia, celuloza	0-95%
Substancja wiążąca	Skrobia, celuloza, hydroksypropylceluloza, hydroksypropylometylceluloza, maltodekstryna	0-15%
Substancja poślizgowa	Koloidalny dwutlenek krzemu	0-5%
Substancja rozdrabniająca	Skrobia, karmeloza sodowa, usieciowana karmeloza sodowa, karboksymetyloskrobia sodowa	0-15%
Stabilizator/anty- oksydant	Octan tokoferolu, galusan propylu, kwas askorbinowy, palmitynian askorbylu	0-5%
Substancja smarująca	Stearynian magnezu	0-5%
Powłoka (błonka)		
Środek wiążący błonkę	Hydroksypropylometylceluloza, pochodne kwasu poliakrylowego, Eudragit	20-100%
Zmiękcacz	Glikol polietylenowy	0-20%
Wypełniacz	Talk, dwutlenek tytanu, węglan wapnia	0-20%
Pigment	Dwutlenek tytanu, węglan wapnia	0-20%
Substancja koloryzująca	Pigmenty tlenku żelaza	0-10%

cd. tabeli 3

1	2	3
Powłoka (cukier)		
Środek powlekający	Sacharoza	30-90%
Zmiękcacz	Powidon 700000, glikol polietylenowy 6000	0-10%
Wypełniacz/środek powlekający	Talk, dwutlenek tytanu, węglan wapnia	10-50%
Nawilżacz	Glicerol	0-5%
Pigment	Dwutlenek tytanu, węglan wapnia	0-10%
Substancja koloryzująca	Pigmenty tlenku żelaza	0-10%
Środek polerujący	Wosk	0-0,5%

Przykład 4

Korzystne kompozycje

Korzystna kompozycja składa się z poniższych składników. Wielkość serii wynosi odpowiednio 200000-550000 tabletek (miejsce badań) oraz 2,5-5 milionów tabletek (miejsce produkcji). W procesie wytwarzania masy tabletkowej (granulacja w złożu fluidalnym) oraz powłoki (błonki) jako środek pomocniczy stosuje się wodę.

Składnik	Jedna tabletk (mg)	Badania (kg)	Produkcja (kg)
Drospirenon, mikro 15	3,0	1,650	7,500
Kompleks etynyloestradol- β -cyklodekstryna, mikro	0,020*	0,011*	0,050*
Monohydrat laktozy	48,18	26,499	120,450
Skrobia kukurydziana	28,0	15,400	70,000
Stearynian magnezu	0,8**	0,440**	2,000**
Masa tabletkowa	80,0 mg	44,000 kg	200,000 kg
Hydroksypropylometyloceluloza	1,5168	0,83424	3,792
Talk	0,3036	0,16698	0,759
Dwutlenek tytanu	1,1748	0,64614	2,937
Pigment tlenku żelaza, czerwony	0,0048	0,00264	0,012
Waga powłoki (błonki)	3,0 mg	1,650 kg	7,500 kg
Waga całkowita	83,0 mg	45,650 kg	207,500 kg

*wartości oznaczają ilość etynyloestradolu

Przykład 5

Proces wytwarzania

Proces wytwarzania składa się z następujących etapów:

Wytwarzanie płynu do granulacji: zawiesić skrobię kukurydzianą w oczyszczonej wodzie i mieszając dodać tę zawiesinę do wody oczyszczonej.

Wytwarzanie granulek: Do urządzenia do granulacji ze złożem fluidalnym wprowadzić laktozę, drospirenon (mikro) 15, kompleks etynyloestradol- β -cyklodekstryna (mikro) oraz skrobię kukurydzianą (część). Aktywować ciągle złożo fluidalne i dodać płyn do granulacji. Wysuszyć. Sprawdzić wilgotność względną masy granulatu. Wysuszyć masę granulatu - jeżeli konieczne - aż do uzyskania wilgotności względnej w pożądanym zakresie (30-45%).

Wytwarzanie masy tabletkowej: Do urządzenia do granulacji ze złożem fluidalnym wprowadzić skrobię kukurydzianą (część) i stearynian magnezu. Zmieszać.

Wyciskanie masy tabletkowej: Do uformowania rdzenia tabletek należy wykorzystać obrotowa maszynę do tabletkowania.

Wytwarzanie zawiesiny tworzącej błonkę: W wodzie oczyszczonej zawiesić talk, czerwony barwnik tlenku żelaza i dwutlenek tytanu; zawiesinę homogenizować.

Hydroksymetylocelulozę rozpuścić mieszając w wodzie oczyszczonej. Mieszaninę połączyć i homogenizować; sprawdzić wydajność.

Powlekanie błonką: Rdzenie tabletek wprowadzić do odpowiedniego urządzenia do powlekania i rozgrzać. Sprayem nanieść odpowiednią ilość zawiesiny tworzącej błonkę w sposób ciągły na obracające się rdzenie, susząc ciepłym powietrzem. Wypolerować i sprawdzić jednorodność wagi, czas rozpadu i wydajność.

P r z y k ł a d 6

Dysocjacja kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna

Ustalono stałą dysocjacji kompleksu EE- β -CD w roztworze wodnym.

Sposób badania

Po rozpuszczeniu w wodzie kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna ulega dysocjacji na poszczególne składniki, etynyloestradiol (EE) oraz ligand β -cyklodekstrynę (CD) zgodnie z równowagą prawa działania mas.



W tym badaniu szybkość dysocjacji kompleksu 1:1 ustalono z zastosowaniem metody relaksacyjnej z zatrzymanym przepływem z wykrywaniem konduktometrycznym. Zastosowano sposób pośredni w oparciu o reakcję kompetycyjną z zastosowaniem dodecylosiarczanu sodu (SDS), który również tworzy kompleks. SDS jako sól ulega dysocjacji w roztworze wodnym i w wystarczający sposób przyczynia się do przewodności. Gdy anion SD^- zwiąże się z β -cyklodekstryną, utworzony kompleks będzie mniej ruchliwy niż wolne aniony SD^- w wodzie, a przewodność elektryczna roztworu zmniejszy się. Różnicę przewodności wolnych anionów SD^- a anionów w kompleksie stosowano do wykrywania kinetyki uwalniania etynyloestradiolu z kompleksu włączeniowego przy pomocy kinetycznego aparatu z zatrzymanym przepływem i wykrywaczem przewodności.

Podsumowanie wyników

Ustalono, że stała dysocjacji kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna w stosunku 1:1 wynosi: $K_d = 4, 45 \cdot 10^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$

Obliczono, że w warunkach pierwszego rzędu czas połowicznej dysocjacji kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna w stosunku 1:1 wynosi: $t_{1/2} = 155.8 \text{ sek. (2,6 min.)}$.

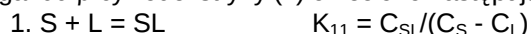
P r z y k ł a d 7

Stała stabilności kompleksu EE- β -CD w roztworze wodnym

Ustalono stałą stabilności w stanie równowagi (stałą tworzenia) kompleksu EE- β -CD w roztworze wodnym.

Wprowadzenie

Substancją leku - kompleksem etynyloestradiol- β -cyklodekstryna - jest kompleks włączeniowy zawierający jedną cząsteczkę etynyloestradiolu i dwie cząsteczki β -cyklodekstryny. Powstawanie kompleksu włączeniowego etynyloestradiol- β -cyklodekstryna w roztworze wodnym ze składników - etynyloestradiolu (S) i ligandu β -cyklodekstryny (L) określono następującymi równaniami zgodnie z prawem działania mas.



Stałą stabilności w stanie równowagi (stałą tworzenia) K_{11} ustalono techniką rozpuszczalności faz. Dla K_{12} uzyskano jedynie przybliżoną wartość szacunkową.

Podsumowanie wyników

Techniką diagramu rozpuszczalności faz (PSD) w roztworach wodnych w temperaturze 20°C uzyskano następujące dane:

Stała stabilności kompleksu 1:1	$K_{11} = 9,5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$
Rozpuszczalność etynyloestradiolu	$S_{\text{EE}} = 2,17 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l (6,43} \cdot 10^{-3} \text{ g/l)}$
Rozpuszczalność kompleksu 1:1	$S_{11} = 1,92 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l (2,75 g/l)}$
Rozpuszczalność kompleksu 1:2	$S_{12} = 1,44 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l (3,7 g/l)}$

Przykład 8

Stała stabilności kompleksu EE- β -CD w 0,1 M HCl

Stałą stabilności w stanie równowagi (stałą tworzenia) kompleksu EE- β -CD w 0,1 M HCl ustalono jak opisano w przykładzie 7.

Podsumowanie wyników

Techniką diagramu rozpuszczalności faz (PSD) w 0,1 M HCl w temperaturze 20°C uzyskano następujące dane:

Stała stabilności kompleksu 1:1	$K_{11} = 1,56 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$
Ogólna stała stabilności kompleksu 1:2	($= K_{11} \cdot K_{12}$): $K_{12} = \text{około } 1,6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$
Rozpuszczalność etynyloestradiolu	$S_{EE} = 1,68 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ (0,05 g/l)
Rozpuszczalność kompleksu 1:1	$S_{11} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ (2,9 g/l)
Rozpuszczalność kompleksu 1:2	$S_{12} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ (1,3 g/l)

Przykład 9

Stała dysocjacji kompleksu EE- β -CD w roztworze wodnym

Ustalono stałą dysocjacji kwasowej kompleksu EE- β -CD w roztworze wodnym

Wprowadzenie

Substancją leku - kompleksem etynyloestradiol- β -cyklodekstryna - jest kompleks włączeniowy zawierający jedną cząsteczkę etynyloestradiolu i dwie cząsteczki β -cyklodekstryny. W roztworze wodnym kompleks etynyloestradiol- β -cyklodekstryna ulega dysocjacji na składniki zgodnie z prawem działania mas. Aby powstrzymać dysocjację kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna w pomiarach zastosowano roztwór wodny zawierający około 300-krotny (0,0114 molarny) nadmiar β -cyklodekstryny w stosunku do etynyloestradiolu. Wartość pKa mierzono miareczkowaniem fotometrycznym zgodnie z zaleceniami przedstawionymi w Environmental Assessment Technical Handbook.

Podsumowanie wyników

Ustalono, że stała kwaśnej dysocjacji kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna w temperaturze 20°C wynosi:

pKa = $10,51 \pm 0,03$.

Dla porównania wartość pKa etynyloestradiolu pod nieobecność β -cyklodekstryny wynosi:

pKa = $10,25 \pm 0,04$.

Przykład 10

Wartość log P kompleksu EE- β -CD

Wprowadzenie

Substancją leku - kompleksem etynyloestradiol- β -cyklodekstryna - jest kompleks włączeniowy zawierający jedną cząsteczkę etynyloestradiolu i dwie cząsteczki β -cyklodekstryny. Podział kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna określono równowagą w układzie dwufazowym - n-oktanol/woda. Ustalić można jedynie całkowitą ilość etynyloestradiolu w fazie wodnej i w oktanolu. Wynikiem jest pozorny współczynnik podziału n-oktanol/woda etynyloestradiolu. Dla ustalenia zależności pozornego współczynnika podziału n-oktanol/woda etynyloestradiolu od pH pomiary prowadzono przy pH równym 5, 7 i 9 z wstrząsaniem zlewki, zgodnie z wytyczną 107 OECD¹). Pomiary prowadzono w roztworach wodnych buforowanych do pH 5, 7 i 9. Stężenie etynyloestradiolu w każdej z faz po ekwilibracji w temperaturze 25° ustalono przy pomocy HPLC.

Podsumowanie wyników

Zależność pozornego współczynnika podziału etynyloestradiolu od pH			
pH	Średni przybliżony P_{ow} z odchyleniami standardowymi	Przybliżony log P_{ow}	95% przedziały ufności dla przybliżonego log P_{ow}
5	2395 ± 623	3,38	3,28 - 3,46
7	3424 ± 1298	3,53	3,35 - 3,67
9	1579 ± 505	3,20	3,08 - 3,29

Przykład 11

Postacie stałe kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna

Ustalono wiele stałych postaci etynyloestradiolu- β -cyklodekstryny i dostarczono sposoby badawcze, dzięki którym można wykrywać i rozróżniać takie postacie.

Wprowadzenie

W różnych warunkach krystalizacji, suszenia i przechowywania uzyskano i zbadano w odniesieniu do postaci stałych szereg produktów krystalizacji. Zastosowano odpowiednie i możliwe do zastosowania poniższe sposoby analityczne do zidentyfikowania i scharakteryzowania postaci w stanie stałym:

Rentgenowska metoda proszków krystalicznych (XRPD)

Analiza termiczna różnicowa (DTA) w połączeniu z termograwimetrią (TG)

Kalorymetria skaningowa różnicowa w połączeniu z termograwimetrią (TG)

Podsumowanie wyników

Dowody na powstawanie kompleksów uzyskano badając czysty etynyloestradiol i beta-cyklodekstrynę, mechaniczne mieszaniny obu substancji oraz próbki kompleksu etynyloestradiol-beta-cyklodekstryna rentgenowską metodą proszków krystalicznych i analizą termiczną. Zgodnie z tymi badaniami co najmniej około 90% etynyloestradiolu powinno być związanych w kompleksie.

Dominującą postacią kompleksu etynyloestradiol-beta-cyklodekstryna jest hydrat zawierający różną ilość wody. Zmienność zawartości wody jest konsekwencją naturalnych właściwości wolnej cyklodekstryny, a także związków włączeniowych (kompleksów bądź klatratów) i ustanowienia równowagi przynajmniej części wody hydratu z otaczającą atmosferą. Podczas przechowywania ustanawia się zawartość wody w stanie równowagi, która zależy od temperatury, ciśnienia i wilgotności względnej. Woda hydratu może zostać w łatwy sposób usunięta z sieci przestrzennej kryształu. W ostrzejszych warunkach suszenia usunąć można całą wodę krystaliczną, jednakże powstający materiał jest niezwykle higroskopijny, a zatem bez znaczenia zatem dla substancji leku. To samo dotyczy hydratów w pełni nasyconych wodą, charakteryzujących się stabilnością jedynie w obecności płynu macierzystego lub w warunkach wilgotności względnej przekraczającej 97%. W związku z tym dyskusja na temat postaci stałych kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna musi koncentrować się na właściwościach szeregu hydratów, mających różną zawartość wody, gdzie górną granicą jest nasycenie wodą.

Woda hydratu jest częścią struktury krystalicznej, zatem zmiany zawartości wody wiążą się ze zmianami struktury krystalicznej. Przejawia się to różnicami wzorca w rentgenowskiej metodzie proszków krystalicznych dla partii klatratu o różnej zawartości wody. Według tych wzorców wyróżnić można cztery różne rodzaje. Partie typu I zawierają poniżej 1% wody. W partiach typu II i III zawartość wody znajduje się w granicach odpowiednio 4-10% i 8-15%. Typ IV cechuje się zawartością wody powyżej 15%. Nie ma jednakże wyraźnego rozgraniczenia pomiędzy sąsiednimi typami. Umieszczenie szczytów dyfrakcji zmienia się stopniowo ze względu na puchnięcie i obkurczanie się struktury krystalicznej podczas sorpcji lub desorpcji wody. Badania czterech typów, prowadzone metodą analizy termicznej różnicowej w połączeniu z termograwimetrią wykazały, że odwodnienie zachodzi w przedziale 25-170°C.

Te różne postacie w łatwy i odwracalny sposób wzajemnie w siebie przechodzą, dostosowując się do wilgotności otoczenia. Zachowanie to wskazuje na znaczną sztywność strukturalnej ramy, która nie pozwala na głębokie zmiany podstawowego układu beta-cyklodekstryna/etynyloestradiol z tworzeniem bloków substancji stałej podczas uwodnienia i odwodnienia.

Przykład 12

Wytwarzanie kompleksu etynyloestradiol-beta-cyklodekstryna

Kompleks etynyloestradiol-beta-cyklodekstryna uzyskano poprzez ko-precypitację w następujący sposób:

Proces 1 (P1): Etynyloestradiol rozpuszczono w etanolu.

β -cyklodekstrynę rozpuszczono w temperaturze 45°C w wodzie. Roztwór etynyloestradiolu dodano do roztworu β -cyklodekstryny. Uzyskaną zawiesinę mieszano przez kilka godzin w temperaturze 20-25°C, a następnie 2°C. Produkt krystalizacji izolowano i suszono z zastosowaniem poniżej opisanych sposobów.

Proces 2 (P2): Etynyloestradiol rozpuszczono w acetonie.

β -cyklodekstrynę rozpuszczono w temperaturze 45°C w wodzie. Roztwór etynyloestradiolu dodano do roztworu β -cyklodekstryny. Uzyskaną zawiesinę mieszano przez kilka godzin w temperaturze poniżej 25°C. Następnie produkt krystalizacji izolowano i suszono z zastosowaniem poniżej opisanych sposobów.

Mechaniczne mieszaniny β -cyklodekstryny i etynyloestradiolu wytworzono poprzez odważenie, a następnie homogenizację przez mielenie w młynku agatowym.

T a b e l a 12.1a:
Produkty krystalizacji kompleksu

Seria	Rozpuszczalnik/warunki traktowania	Zawartość EE (%)	Zawartość wody (%)
Im2180	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,9	5,57
Im2181	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	11,2	5,26
Im2182/1	P 1, suszenie przez 1 godz. w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	n.d.	6,5
Im2182/2	P 1, suszenie przez 2 godz. w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	n.d.	6,5
Im2182/3	P 1, suszenie przez 4 godz. w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	n.d.	6,4
Im2182/4	P 1, suszenie przez 4 godz. w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	n.d.	7,7
Im2182/5	P 1, suszenie przez 43,5 godz. w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	10,8	4,47
Im2182/6 Act.	P 1, płukanie acetonem, suszenie przez 3 godz. W temperaturze 2°C na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	10,9	4,65
Im2182/7	P 1, płukanie acetonem i wodą, suszenie przez 3 godz. w temperaturze 2°C na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	10,6	4,47
Im2183/V	P 1, suszenie przez kilka godzin w temperaturze pokojowej na P ₂ O ₅ w eksykatorze próżniowym	11,4	4,21
Im2183/VT	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,7	5,59
Im2183/L	P 1, przechowywanie na powietrzu	11,4	10,2
Im2183/VT+L	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej, a następnie przechowywanie na powietrzu	10,6	8,75
Im2184	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,9	5,60
Im2188	P 1, 20 godz. w temperaturze pokojowej	10,8	11,85
Im2190f.	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej - 1d	n.d.	-
Im2191f.	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej - 1d	n.d.	-
Im2190	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej - 5d	10,6	7,5
Im2191	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej - 5d	10,6	7,7
28052591	Seria Im2190 mikronizowana	10,7	8,23
Im2220	P 2, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,7	5,61
Im2221	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,2	5,78
Im2222	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,4	5,57
Im2223	P 1, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,1	5,64
Im2224	P 2, suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,4	5,75

T a b e l a 12.1b:
Produkty krystalizacji kompleksu

Seria	Rozpuszczalnik/warunki traktowania	Zawartość EE (%)	Zawartość wody (%)
Im2225/1	P 1, płukanie 2 x wodą; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	11,2	3,34
Im2225/2	P 1, płukanie 2 x wodą, 1 x acetonem; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,5	3,31
Im2225/3	P 1, płukanie 2 x wodą, 1 x acetonem, 1 x wodą; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,9	3,8
Im2230	P 1, płukanie 1 x wodą, 1 x acetonem, 1 x wodą; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,8	4,35
Im2231	P 1, płukanie 1 x wodą, 1 x acetonem, 1 x wodą; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	11	2,63
Im2240	P 1, płukanie 1 x wodą, 1 x acetonem, 1 x wodą; suszenie w szafkowej suszarce próżniowej	10,5	6,71
28052591, DVS1 0% RH	Seria 28052591 po jednym cyklu sorpcji/desorpcji, przechowywana w 0% RH	n.d.	< 1% ⁵
Im2180, DVS1 0% RH	Seria Im2180 po jednym cyklu sorpcji/desorpcji, przechowywana w 0% RH	n.d.	< 1% ⁵
Im2180, DVS1 45% RH	Seria Im2180 przechowywana w 45% RH	n.d.	6,5 ⁵
Im218 0, DVS1 70% RH	Seria Im2180 przechowywana w 70% RH	n.d.	9,5 ⁵
Im2180, DVS1 75% RH	Seria Im2180 przechowywana w 75% RH	n.d.	9,5 ⁵
Im2180, DVS1 93% RH	Seria Im2180 przechowywana w 93% RH	n.d.	~15 ⁵
Im2180, 3d Mg (ClO ₄) ₂	Seria Im2180 przechowywana 3d na Mg(ClO ₄) ₂	n.d.	n.d.
Im2190, 5d 97% RH	Seria Im2190 przechowywana 5d w 97% RH	n.d.	~16,7 ⁵
Im2190, 7d 97% RH	Seria Im2190 przechowywana 7d w 97% RH	n.d.	~16,5 ⁵
28052591, 7d Mg(ClO ₄) ₂	Seria 28052591 przechowywana 7d na Mg(ClO ₄) ₂	n.d.	< 0,1 ⁵
28052591, 7d 97% RH	Seria 28052591 przechowywana 7d w 97% RH	n.d.	16,9 ⁵
28052591, mokra	Seria 28052591, zawieszona w wodzie, bez suszenia	-	-
28052591, 7d 75% RH	Seria 28052591 przechowywana 7d w 75% RH	n.d.	10,5 ⁵

⁵ obliczone w oparciu o zawartość wody wyjściowego materiału i obserwowaną zmianę masy

Zastrzeżenia patentowe

1. Kompozycja zawierająca:

- i) kompleks estrogenu z cyklodekstryną w preparacie w postaci granulatu, oraz opcjonalnie
- ii) jeden lub więcej rozpuszczalników,

znamienna tym, że wymieniony granulowany preparat zawiera poliwinylpirolidon w stężeniu nie większym niż 2% wag., przy czym kompozycja ma taką stabilność, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do wyjściowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i przy 75% wilgotności względnej (RH).

2. Kompozycja według zastrz. 1, **znamienna tym**, że estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), estradiol, sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu, bądź ich mieszaniny.

3. Kompozycja według zastrz. 1 albo 2, **znamienna tym**, że estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu bądź ich mieszaniny.

4. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że estrogenem jest etynyloestradiol.

5. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że cyklodekstryną wybrana jest z grupy obejmującej α -cyklodekstrynę, β -cyklodekstrynę, γ -cyklodekstrynę, i ich pochodne.

6. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna lub jej pochodne.

7. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że estrogen znajduje się w ilości równoważnej terapeutycznie ekwiwalentnej ilości etynyloestradiolu i wynosi od 0,002 do 2% wag.

8. Kompozycja według zastrz. 1 albo 2, **znamienna tym**, że estrogen znajduje się w ilości od 0,002 do 2% wag, korzystnie od 0,004 do 0,2% wag., jeszcze korzystniej od 0,008 do 0,1% wag., a najkorzystniej od 0,02 do 0,05% wag.

9. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że estrogenem jest etynyloestradiol, a cyklodekstryną jest β -cyklodekstryna, przy czym zawartość etynyloestradiolu w stosunku do kompleksu etynyloestradiol- β -cyklodekstryna wynosi od 5 do 20% wag., korzystnie od 8 do 15% wag., a najkorzystniej od 9 do 13% wag.

10. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że zawartość estrogenu w stosunku do cyklodekstryny jest taka, że stosunek molarny estrogenu do cyklodekstryny wynosi od 2:1 do 1:10, korzystnie od 1:1 do 1:5, a najkorzystniej od 1:1 do 1:3, tak jak 1:1 i 1:2.

11. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że zawiera również jednego lub więcej terapeutycznie aktywnego składnika.

12. Kompozycja według zastrz. 11, **znamienna tym**, że jednym lub więcej terapeutycznie aktywnym składnikiem jest progestagen.

13. Kompozycja według zastrz. 12, **znamienna tym**, że progestagen wybrany jest z grupy obejmującej drospirenon, lewonorgestrel, norgestrel, gestoden, dienogest, octan cyproteronu, noretysteron, octan noretysteronu, dezogestrel, 3-keto-dezogestrel, korzystnie drospirenon.

14. Kompozycja według zastrz. 13, **znamienna tym**, że progestagenem jest drospirenon.

15. Kompozycja według zastrz. 14, **znamienna tym**, że drospirenon jest mikronizowany.

16. Kompozycja według zastrz. 14 albo 15, **znamienna tym**, że drospirenon znajduje się w ilości od 0,4 do 20% wag., korzystnie od 0,8 do 10% wag., a najkorzystniej od 1,5 do 5% wag.

17. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że preparat w postaci granulatu ma wilgotność względną nie większą niż 55%, korzystnie nie większą niż 45%, a najkorzystniej nie większą niż 40%, mierzoną w temperaturze od 20 do 40°C.

18. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że zawiera poliwinylpirolidon w ilości nie większej niż 1% wag., korzystnie nie większej zastrzeżeń, **znamienna tym**, że zawiera niż 0,5% wag., a najkorzystniej nie większej niż 0,2% wag.

19. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że jednego lub więcej rozczynników wybranych jest z grupy obejmującej skrobię, celulozę, hydroksypropylocelulozę, hydroksypropylometylocelulozę i maltodekstrynę.

20. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że kompleks jest mikronizowany.

21. Kompozycja według któregośkolwiek z poprzednich zastrzeżeń, **znamienna tym**, że zawiera również antyoksydant.

22. Sposób wytwarzania kompozycji zawierającej kompleks estrogenu z cyklodekstryną, w którym:

i) wytwarza się kompleks estrogenu z cyklodekstryną;

ii) załadowuje się kompleks oraz jeden lub więcej rozczynników, do granulatora;

iii) dodaje się płyn do załadowanego kompleksu oraz jeden lub więcej rozczynników, w warunkach granulacji,

znamienny tym, że warunki granulacji są takie, iż uzyskuje się granulki o wilgotności względnej nie przekraczającej 60%, mierzonej w temperaturze od 20 do 40°C, i gdzie rozczynnikiem jest poliwinylolipirolidon, obecny w kompozycji w ilości nie większej niż 2% wag.

23. Sposób według zastrz. 22, **znamienny tym**, że wilgotność względna preparatu w postaci granulatu nie przekracza 55%, korzystnie gdy nie przekracza 45%, a najkorzystniej gdy nie przekracza 40%, gdy mierzona jest w temperaturze od 20 do 40°C.

24. Sposób według zastrz. 22 albo 23, **znamienny tym**, że estrogen wybrany jest z grupy obejmującej etynyloestradiol (EE), estradiol, sulfaminiany (amidosulfoniany) estradiolu, walerianian estradiolu, benzoesan estradiolu, estron oraz siarczan estronu, bądź ich mieszaniny.

25. Sposób według któregośkolwiek z zastrz. 22-24, **znamienny tym**, że estrogenem jest etynyloestradiol.

26. Sposób według któregośkolwiek z zastrz. 22-25, **znamienny tym**, że stosuje się poliwinylolipirolidon w ilości nie większej niż 1% wag., korzystnie nie większej niż 0,5% wag., a najkorzystnie nie większej niż 0,2% wag.

27. Sposób według któregośkolwiek z zastrz. 22-26, **znamienny tym**, że jeden lub więcej rozczynników wybranych jest z grupy obejmującej skrobię, celulozę, hydroksypropylocelulozę, hydroksypropylo-metylocelulozę i maltodekstrynę.

28. Kompozycja uzyskana sposobem zdefiniowanym w którymkolwiek z zastrz. 22-27.

29. Zastosowanie kompleksu estrogenu z cyklodekstryną w antykoncepcji hormonalnej u kobiet, który to kompleks ma postać kompozycji zawierającej granulowany preparat tego kompleksu, **znamiennie tym**, że gdy kompozycja zawiera poliwinylolipirolidon to jest on w ilości nie większej niż 2% wag., przy czym kompozycja ma taką stabilność, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do początkowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i wilgotności względnej (RH) wynoszącej 75%.

30. Zastosowanie według zastrz. 29, **znamiennie tym**, że kompozycja jest również określona którymkolwiek z zastrz. 2-21, lub zastrz. 28.

31. Zastosowanie kompleksu estrogenu z cyklodekstryną do wytwarzania leku przeznaczonego do hormonalnej terapii zastępczej u kobiet, gdzie lek zawiera kompozycję zawierającą kompleks w postaci granulatu, **znamiennie tym**, że jeżeli preparat w postaci granulatu zawiera poliwinylolipirolidon, to występuje on w stężeniu nie większym niż 2% wag., oraz że lek ten charakteryzuje się taką stabilnością, że zawartość estrogenu wynosi co najmniej 85% wag. w odniesieniu do początkowej zawartości estrogenu po przechowywaniu przez 12 miesięcy w temperaturze 40°C i wilgotności względnej (RH) wynoszącej 75%.

32. Zastosowanie według zastrz. 31, **znamiennie tym**, że kompozycja jest również określona którymkolwiek z zastrz. 2-21, lub zastrz. 28.