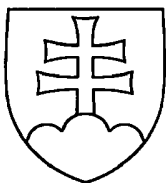


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania prihlášky: 24.03.1999
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 0420/98
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 25.03.1998
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: DK
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 09.04.2001
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade
vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: PCT/DK99/00160
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: WO 99/48533

(21) Číslo dokumentu:

1409-2000

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁷:

A 61K 47/48

(71) Prihlasovateľ: PHARMACOSMOS HOLDING A/S, Roskilde, DK;

(72) Pôvodca vynálezu: Andreassen Hans Berg, Viby Sjaelland, DK;
Christensen Lars, Roskilde, DK;

(74) Zástupca: Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Železito-dextránová zlúčenina, spôsob jej výroby a jej použitie**

(57) Anotácia:

Železito-dextránová zlúčenina na parenterálnu liečbu anémie z nedostatku železa pozostáva z hydrogenovaného dextránu s váženým priemerom molekulových hmotností (M_w) medzi 700 a 1 400 daltonov, výhodne približne 1 000 daltonov, číselným priemerom molekulových hmotností (M_n) od 400 do 1 400 daltonov, pričom 90 % (podľa hmotnosti) dextránu má molekulové hmotnosti menej ako 2 700 daltonov a M_w zvyšných 10 % hmotnostnej frakcie dextránu s najvyššími molekulovými hmotnosťami je pod 3 200 daltonov. Hydrogenovaný dextrán bol čistený membránovým procesom s hraničnou hodnotou medzi 340 a 800 daltonmi a je v stabilnej asociácii s hydroxidoxidom železitým. Zlúčenina sa pripraví elimináciou dextránov s vyššími molekulovými hmotnosťami ako približne 2 700 daltonov s využitím membránových procesov a odstránením sacharidov s molekulovými hmotnosťami menej ako približne 340 daltonov membránovými procesmi z hydrogenovaného dextránu pred zrážaním hydroxidu železitého v prítomnosti uvedeného dextránu a následným tepelným spracovaním a čistením.

Železito-dextránová zlúčenina, spôsob jej výroby a jej použitie

Oblasť techniky

Vynález sa týka železito-dextránovej asociovanej zlúčeniny ako zložky terapeutického prostriedku na profylaxiu alebo liečbu nedostatočnosti železa; vynález sa ďalej týka spôsobu prípravy uvedenej železito-dextránovej zlúčeniny a použitia tejto železito-dextránovej zlúčeniny na prípravu parenterálne podávateľného terapeutického prostriedku.

Doterajší stav techniky

Anémia z nedostatku železa sa z celosvetového hľadiska opisuje ako jeden z najpravdepodobnejších a najčastejších patologických stavov medzi ľuďmi. Anémia je problémom tiež v moderných výkrmniach ošipaných a ďalších domácich zvierat pokiaľ sa nevykonávajú vhodné profylaktické vyšetovania.

Hoci anémiu z nedostatku železa možno preventívne ovplyvniť alebo liečiť podávaním železo obsahujúcich preparátov perorálne, v mnohých prípadoch sa uprednostňuje používanie parenterálne podávateľných železitých prípravkov aby sa predišlo zmenám v biodostupnosti prípravkov perorálneho podávania a na zabezpečenie účinnosti podávania.

Železo obsahujúce prípravky na parenterálne použitie, to znamená subkutánne, intramuskulárne alebo intravenózne podávanie, sú preto už veľa rokov k dispozícii humánnym aj veterinárnym lekárom.

Hoci sa doteraz používali alebo navrhovali rôzne železo obsahujúce látky ako zložky parenterálnych injekčných prípravkov proti anémii z nedostatku železa, najčastejšími, dnes uznávanými prípravkami sú také prípravky, ktoré obsahujú asociovaný produkt hydroxidoxid železitý (alebo hydroxid železitý) kombinovaný s dextránom. Dextrán je polymérny sacharid, produkovaný mikroorganizmami *Leuconostoc mesenteroides*.

Železo obsahujúci prípravok na parenterálne injekcie musí zvyčajne vyhovovať niekoľkým požiadavkám, vrátane dobrej biologickej dostupnosti železa

na syntézu hemoglobínu, bez spôsobovania miestnych alebo celkových vedľajších účinkov a vrátane stability pri skladovaní, umožňujúcej dlhodobé uloženie v sklade pri teplote okolia.

Železo obsahujúce prípravky na liečbu anémie sú na trhu už desiatky rokov a bolo navrhnutých už veľa obmien výrobných spôsobov a obmien pri výbere východiskových materiálov, najmä z hľadiska zlepšenia stability prípravkov a z hľadiska zníženia množstva vedľajších účinkov, spôsobených ich podávaním.

Ako príklady patentov, ktoré sa zaoberajú týmito problémami možno uviesť nasledujúce.

Patent USA 2 885 393 (1959) opisuje základný proces výroby železito-dextránového komplexu, v ktorom priemerná molekulová hmotnosť dextránu je 30 000 až 80 000 daltonov alebo je nižšia. Z patentového spisu nie je zrejmá vhodnosť týchto komplexov pre humánnu terapiu.

Spis USA Re. 24 642 (1959) obsahuje podrobné vysvetlenie požiadaviek na železité roztoky, určené na intramuskulárne injekcie; tento spis sa tu zahŕňa týmto odkazom. Patent sa týka v podstate neiónového komplexu hydroxidu železitého s dextránom, ktorý má strednú pravú viskozitu pri 25 °C približne 0,025 až do 0,25; ďalej sa týka spôsobu prípravy tohto komplexu, pričom sa uvedený dextrán privedie do styku s hydroxidom železitým, vytváraným *in situ* reakciou medzi železitou soľou a zásadou. Okrem čiastočnej depolymerizácie sa neuvádzajú žiadne informácie o vyžadovanej molekulovej hmotnosti dextránu ani o jeho chemickej modifikácii.

Patent USA 3 093 545; tento patent opisuje niektoré podrobnosti ako sú teploty a hodnoty pH v zlepšenom spôsobe prípravy produktu, zrejme veľmi podobného produktu pripravenému v posledne uvedenom patente.

Patent GB 1 200 902 (1970) na rozdiel od prípravy hydroxidu železitého *in situ* uvádza jeho samostatnú prípravu v kontrolovaných podmienkach vopred, pretože takto pripravený hydroxid železitý potom ľahko vytvára komplexy s dextránmi. Ďalej sa v patente tvrdí, že ako teoretická možnosť prichádza do úvahy použitie nielen čiastočne depolymerizovaného dextránu s váženým priemerom molekulovej hmotnosti v rozmedzí napríklad 500 až 50 000 daltonov, výhodne v rozmedzí 1 000 až 10 000 daltonov, ale tiež modifikovanej formy alebo derivátov dextránu ako sú hydrogenované dextrány, alebo oxidované dextrány, alebo

alkalicky upravené dextrány. V patente sa ale uvádzajú iba dextrány s priemerní molekulových hmotností 3 000 a 5 000 daltonov. Hydroxid železitý sa pripravuje pred stykom s dextránom. Znamená to, že výsledný produkt obsahuje hydroxidoxid železitý na ktorom dextrán vytvára povlak, na rozdiel od viac homogénneho produktu, vytváraného zrážaním hydroxidu železitého *in situ*, to znamená v prítomnosti dextránu.

Patent DK 117 730 (1970) sa týka spôsobu, v ktorom hydrogenovaný dextrán s molekulovou hmotnosťou medzi 2 000 a 10 000 daltonov reaguje vo vodnom prostredí s hydroxidom železitým. Stredná molekulová hmotnosť použitého dextránu sa v príklade uskutočnenia vynálezu neuvádza. Uvádza sa ale pravá viskozita na úrovni približne 0,05, čo by zodpovedalo strednej molekulovej hmotnosti približne 5 000 daltonov.

Patent DK 122 398 (1972) zverejňuje tiež použitie hydrogenovaného dextránu na prípravu komplexných zlúčenín s hydroxidom železitým a objasňuje sa, že podstatne nižšia toxickosť sa dosahuje, ak sa použije nehydrogenovaný dextrán. Podstatou patentu je spôsob, v ktorom sa zmieša vlhký hydroxid železitý s hydrogenovaným dextránom a po optimálnom prídavku kyseliny citrónovej alebo citranu sa zmes zahrieva a čistí.

Patent USA 3 697 502 (1972) zverejňuje spôsob prípravy železito-dextránového prípravku, v ktorom sa k dextránu pridá kyselina citrónová a súčasne sa pridáva roztok hydroxidu alkalického kovu a roztok chloridu železitého. Stredná molekulová hmotnosť dextránu je medzi 3 000 a 20 000 daltonov. V príkladoch uskutočnenie vynálezu sa použili dextrány s molekulovou hmotnosťou 7 000 a 10 000 daltonov.

Patent DK 129 353 (1974) je zameraný na obdobný spôsob prípravy produktu hydroxid železitý – derivát dextránu s priemernou molekulovou hmotnosťou dextránu najviac 50 000 daltonov a s koncovými skupinami polymérnych reťazcov modifikovanými tak, že sa sa redukujúca anhydroglukózová jednotka premenila na karboxylovú skupinu zodpovedajúcej kyseliny. Hoci uvádzané hranice molekulových hmotností dextránu sú veľmi široké, od 500 do 50 000 daltonov, výhodne od 1 000 do 10 000 daltonov, v príkladoch sa použil iba jediný dextrán s priemernou molekulovou hmotnosťou 5 000 daltonov.

Patent DK 129 942 (1974), podobne ako posledne uvedený DK patent sa týka výroby komplexu hydroxidu železitého s dextránovou heptónovou kyselinou alebo dextrínovou heptónovou kyselinou. Heptónové kyseliny sa pripravili hydrolýzou príslušných kyanohydridov.

Patenty USA 4 827 945 (1989) a 5 102 652 (1992) sa týkajú oxidov superparamagnetických kovov ako sú oxidy železa, s povlakom alebo v asociácii s polymérnymi materiálmi ako je dextrán. Polymér sa privádza do styku so zmesou oxidov kovov, ktoré sa v zmesi nachádzajú v dvoch rozdielnych oxidačných stupňoch za vzniku kombinovaného superparamagnetického produktu, ktorý sa potom oxiduje na premenu všetkých oxidov kovov do najvyšších oxidačných stupňov. Získaný produkt je použiteľný najmä ako kontrastná látka pri zobrazovaní magnetickou rezonanciou v medicínskej diagnostike. V patente sa tiež uvádza, že produkt možno použiť aj na liečbu anémie z nedostatku železa. Výhodné molekulové hmotnosti polymérov, vrátane dextránu sú od 5 000 do 250 000 daltonov.

Patent GB 1 076 219 opisuje výrobu železitého prípravku, v ktorom je hydroxid železitý viazaný na komplexotvornú látku, ktorá v určitých pomeroch pozostáva z sorbitolu, kyseliny glukónovej a oligosacharidu, pričom sorbitol je prevládajúcou zložkou. V jednom z príkladov uskutočnenia patentu sa ako oligosacharid používa hydrogenovaný dextrán s priemernou molekulovou hmotnosťou približne 1 000 daltonov. Zo spôsobu výroby, ktorým sa uvedený dextrán pripravuje možno usúdiť, že obsah zložiek s veľmi nízkou molekulovou hmotnosťou v uvedenom dextráne musí byť veľmi vysoký. V spojitosti s týmto vynálezom je ale vysvetlenie (porovnaj s ďalším textom tohto vynálezu), že v čase tvorby komplexu je prítomný vysoký podiel hydrogenovaného monoméru dextránu, to znamená sorbitolu.

Napriek viacerým snahám zlepšiť železito-dextránový prípravok na liečbu anémie, ktoré sa odrážajú v uvedených patentoch, prípravky pripravené podľa doterajšieho stavu techniky v odbore majú stále niektoré nevýhody.

Vyplýva to zo skutočnosti, že u niektorých pacientov môžu doterajšie prípravky spôsobiť oneskorenú precitlivosť, alebo úporné anafylaktické vedľajšie

účinky, ktoré majú za následok napríklad dýchavičnosť, hypotenziu, šok a smrť. Možno pozorovať aj iné toxické reakcie.

Popri uvedenom, viaceré z doteraz známych prípravkov nie sú schopné spĺňať súčasné požiadavky na stabilitu. Nedostatočná stabilita sa napríklad sama prejavuje želatináciou tekutého prípravku alebo vylučovaním hydroxidu alebo hydroxidoxidu železitého.

Vychádzajúc z výskumu, skúšok a praktických skúseností sa zistilo, že uvádzané nedostatky sú v dextráne použitom ako východiskový materiál spojené s prítomnosťou (hoci iba vo veľmi malých množstvách) nedostatočne hydrolyzovaného dextránu, ktorý má pomerne vysokú molekulovú hmotnosť; ďalej tiež tým, ak sú v použitom dextráne prítomné sacharidy s nízkou molekulovou hmotnosťou.

Je všeobecne známe, že dextrány s vysokou molekulovou hmotnosťou znamenajú väčšie riziko anafylaktických reakcií ako u dextránov s nižšími molekulovými hmotnosťami. V súčasnosti je prakticky uskutočňované znižovanie rizika anafylaktických reakcií pri infúzii klinických dextránov predprípravou pacienta injekciou nízkomolekulového dextránu, ako je dextrán s váženým priemerom molekulových hmotností (M_w) približne 1 000 daltonov.

Výroba dextránu zvyčajne zahŕňa kyslú hydrolýzu dextránov s vyššími molekulovými hmotnosťami, potom nasleduje izolácia a operácie čistenia vrátane vyzrážania dextránu, napríklad z vodného roztoku napríklad prídavkom alkoholu.

Pri precipitácii uvedeným spôsobom sa vyzrážajú nielen vyžadované frakcie dextránu, ale aj akýkoľvek dextrán s vyššou molekulovou hmotnosťou; z tohto dôvodu získaná dextránová frakcia často obsahuje dextrány s vysokou molekulovou hmotnosťou, ktoré neboli rozštiepené v predchádzajúcej kyslej hydrolýze.

Podstata vynálezu

Pretože aj veľmi malé koncentrácie dextránov s vysokými molekulovými hmotnosťami sú schopné spôsobiť nepredvídateľné a často pomerne vážne anafylaktické reakcie, význačným rysom tohto vynálezu je, že treba zabrániť, aby uvedené vysokomolekulové dextrány boli v prípravku prítomné a to náhradou alebo

doplnením doterajších precipitačných spôsobov membránovými procesmi, schopnými veľmi účinne eliminovať prítomnosť dextránov s vysokou molekulovou hmotnosťou pred tým, ako vyžadovaná dextránová frakcia príde do styku so železitými zlúčeninami.

Pôvodcovia vynálezu získali praktické poznatky, že samotné odstránenie dextránov s vysokou molekulovou hmotnosťou z vyžadovanej dextránovej frakcie s váženým priemerom molekulových hmotností napríklad na úrovni 1 000 daltonov nezabezpečuje, že výsledný železitý dextrán bude netoxický a stabilný. Zistilo sa tiež, že ťažkosti spôsobuje tiež prítomnosť sacharidov s nízkou molekulovou hmotnosťou ako sú monosacharidy, ktoré vznikli v procese hydrolýzy.

Prítomnosti uvedených sacharidov sa doteraz pripisovala za iba malá dôležitosť. Ak ale dextrán s obsahom uvedených sacharidov reaguje so železitými zlúčeninami, precipitáciou hydroxidu železitého z roztoku dextránu sa tvoria nielen dextránové-železité asociované zlúčeniny (asociáty), ale vznikajú aj sacharidy kombinované so železom vo forme komplexných alebo asociovaných zlúčenín.

Tieto železito-sacharidové zlúčeniny so oveľa menej stabilné ako železito-dextránové zlúčeniny a vo vodnom roztoku umožňujú vznik určitej koncentrácie voľných železitých iónov a sacharidov s nízkou molekulovou hmotnosťou, napríklad glukózy.

Je dobre známe, že voľné železité ióny, prítomné v prípravkoch na parenterálne podávanie vykazujú toxické účinky. Na druhej strane nielen iba železité ióny, ale tiež sacharidy s nízkou molekulovou hmotnosťou zvyšujú nestabilitu vodných roztokov železitých dextránov, pretože spôsobujú zrážanie a/alebo želatinotvorné reakcie, pravdepodobne vyúsťujúce do úplného stuhnutia roztoku počas dní a mesiacov. Popri tom prítomnosť sacharidov s nízkymi molekulovými hmotnosťami parenterálnu pravdepodobne zvyšuje toxickosť železito-dextránového roztoku, sacharidy zjavne interferujú s väzbou železitých zlúčenín na dextrán, pričom vznikajú voľné alebo iba slabo viazané železité ióny.

Hoci väzba medzi sacharidmi s nízkou molekulovou hmotnosťou a železitými zlúčeninami, ako to vyplýva z hore uvedeného, je pomerne slabá, je ale dostatočná na zabránenie účinného odstránenia sacharidov a voľných zlúčenín železa

procesom dialýzy, ktorá je zvyčajne súčasťou doterajšieho následného spracovania železito-dextránových roztokov.

Preto ďalším význačným rysom tohto vynálezu je, že dextránová frakcia musí byť čistená membránovými procesmi tak, aby sa odstránili aj sacharidy s nízkymi molekulovými hmotnosťami pred tým, ako sa dextránová frakcia použije do reakcie, ktorou sa vytvárajú železo-obsahujúce komplexné alebo asociované zlúčeniny.

Podstatou vynálezu sú železito-dextránové zlúčeniny, ktoré majú výnimočne nízku frekvenciu nežiadúcich vedľajších účinkov a ktoré sú vo forme vodných roztokov dostatočne stále, aj počas sterilizácie a skladovania a v ktorých je železito-dextránová zlúčenina použitá ako zložka terapeutického prostriedku na profylaxiu alebo liečbu nedostatku železa u zvierat alebo ľudí parenterálnym podávaním; pričom železito-dextránová zlúčenina obsahuje hydrogenovaný dextrán s váženým priemerom molekulových hmotností (M_w) medzi 700 a 1 400 daltonov, výhodne približne 1 000 daltonov, číselným priemerom molekulovej hmotnosti (M_n) 400 až 1 400 daltonov, pričom 90 % hmotnostných dextránu má molekulovú hmotnosť menšiu ako 2 700 daltonov a M_w zvyšných 10 % hmotnostných dextránu má najvyššie molekulové hmotnosti menej ako 3 200 daltonov; uvedený dextrán sa podrobil čisteniu membránovými procesmi s hraničnou hodnotou medzi 340 a 800 daltonov; uvedená železito-dextránová zlúčenina je v stabilnej asociácii s hydroxidom železitým.

V spojitosti s týmto vynálezom výrazy "vážený priemer molekulových hmotností" a "číselný priemer molekulových hmotností" znamenajú príslušné stredné molekulové hmotnosti, založené na všetkých dextránových molekulách od monoméru vyššie v čase, kedy nastáva tvorba komplexov.

Usudzuje sa, že dôvodom prečo dextrány s hore uvedeným rozdelením molekulových hmotností nenašli doteraz komerčné využitie pri výrobe železito-dextránových zlúčenín je, že sa doteraz nevenovala dostatočná pozornosť prítomnosti sacharidov s nízkymi molekulovými hmotnosťami, pre ktoré sa zaznamenáva toxickosť a nízka stabilita prípravkov a preto, že sa doteraz nevenovala dostatočná pozornosť skutočnosti, že dextrány s váženým priemerom molekulových hmotností približne 1 000 daltonov sú človekom alebo zvieratami

lepšie tolerované ako dextrány s vyššími molekulovými hmotnosťami, ktoré sa tradične používajú v železitých prípravkoch.

Predmetná zlúčenina sa na použitie parenterálnym podávaním rozpustí alebo disperguje vo vodnom prostredí a môže sa v tejto forme dodávať na trh, výhodne s obsahom železa 5 až 20 % (hmotnosť/objem). Zlúčenina je ale dostatočne stála a možno ju tiež bez znehodnotenia sušiť bežnými spôsobmi sušenia ako je napríklad rozprachové sušenie; z tohto dôvodu možno uvedenú zlúčeninu tiež dodávať na trh v čistej práškovej forme, alebo ako čiastkovú zložku suchého prášku. Obsah železa práškových foriem typicky bude 15 až 45 % hmotnostných.

V dextránoch s pomerne nízkou molekulovou hmotnosťou, ktoré prichádzajú v úvahu podľa tohto vynálezu je vplyv koncových skupín (čiastočne hydrogenované aldehydové skupiny) na polymérnych reťazcoch podstatne viac zvýraznený ako u dextránov s vyššími molekulovými hmotnosťami, pretože (na hmotnostnom základe) podiel funkčných koncových skupín je vyšší. Tieto funkčné koncové skupiny sú náchylné zvyšovať nestabilitu reakciami, ktoré zahŕňajú Fe^{3+} ióny a sacharidy s nízkou molekulovou hmotnosťou. Preto neprítomnosť Fe^{3+} a sacharidov s nízkymi molekulovými hmotnosťami je ešte dôležitejšia, ako keď sa jedná o dextrány s vyššími molekulovými hmotnosťami.

Tento vynález zahŕňa tiež spôsob výroby železito-dextránovej zlúčeniny, ktorá sa opísala hore. Uvedený spôsob výroby sa vyznačuje nasledujúcimi výrobnými krokmi: hydrolýzou sa zníži molekulová hmotnosť dextránu, dextrán sa potom hydrogenuje aby sa premenili funkčné aldehydové koncové skupiny na alkoholové; hydrogenovaný dextrán vo forme vodného roztoku sa kombinuje s najmenej jednou, vo vode rozpustnou železitou soľou; do výsledného roztoku sa pridá zásada za vzniku hydroxidu železitého a výsledná zmes sa zahrieva aby sa hydroxid železitý premenil na hydroxidoxid železitý vo forme asociovanej zlúčeniny s dextránom (asociátu); uvedený spôsob sa vyznačuje tým, že po hydrolýze, ale pred tým ako sa dextrán kombinuje s vo vode rozpustnou železitou soľou sa čistí jedným alebo viac membránovými procesmi s použitím membrány, ktorá má hraničnú hodnotu pre zadržanie dextránu s molekulovou hmotnosťou nad 2 700 daltonov a voliteľne s nasledujúcou hydrolýzou a potom s ďalším jedným alebo viac

membránovými procesmi s použitím membrán s hranicou medzi 340 a 800 daltonov.

Výhodné uskutočnenie uvedeného spôsobu podľa tohto vynálezu zahŕňa nasledujúce kroky:

- prípravu vodného roztoku, obsahujúceho čistený hydrogenovaný dextrans a najmenej jednu vo vode rozpustnú železitú soľ;

- nastavenie pH hodnoty uvedeného vodného roztoku na hodnotu nad 10 pridaním zásady;

zahrievanie zmesi na teplotu vyše 100 °C až sa roztok zmení na čierny alebo tmavohnedý koloidný roztok, ktorý možno filtrovať filtrom s pórm 0,45 µm; a

ďalšie čistenie a stabilizáciu s využitím filtrácie, zahrievania a membránových procesov a pridanie jedného alebo viac stabilizátorov, a voliteľne sušenie roztoku na získanie vyžadovanej železito-dextránovej zlúčeniny vo forme stabilného prášku. Injekčné kvapaliny možno pripraviť opätovným rozpustením tohto prášku, nastavením pH, filtračnou sterilizáciou a plnením do injekčných ampuliek alebo liekoviek. Sterilizáciu možno vykonať tiež autoklávaním naplnených ampuliek alebo liekoviek.

Voliteľne možno vynechať operáciu sušenia; injekčný roztok sa potom vyrobí z čisteného roztoku bez medzistupňa sušenia roztoku.

V ďalšom výhodnom uskutočnení sa hydrogenáciu dextrans vykoná pomocou bórhydridu sodného vo vodnom roztoku.

- Stabilizácia nastáva vhodným pridaním soli organickej hydroxykyseliny, výhodne citranu.

- Tento vynález zahŕňa tiež použitie zlúčeniny, pozostávajúcej z, alebo obsahujúcej hydrogenovaný dextrans s váženým priemerom molekulových hmotností 700 až 1 400 daltonov, výhodne približne 1 000 daltonov, s číselným priemerom molekulových hmotností (M_n) 400 až 1 400 daltonov, pričom 90 % (podľa hmotnosti) dextrans má molekulové hmotnosti menej ako 2 700 daltonov a M_w zvyšných 10 % hmotnostnej frakcie dextrans s najvyššími molekulovými hmotnosťami je pod 3 200 daltonov, v stabilnej asociácii s hydroxydoxidom železitým; uvedený hydrogenovaný dextrans bol čistený membránovým procesom s hranicou medzi 340 a 800 daltonmi; uvedené použitie zlúčeniny znamená použitie

na prípravu parenterálne podávateľného terapeutického prostriedku na profylaxiu alebo liečbu anémie z nedostatku železa u zvierat a ľudí.

Vynález sa ďalej objasňuje pomocou príkladov bez toho, že by ďalej uvedené príklady obmedzovali zmysel a rozsah vynálezu.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

a) Hydrolýza a hydrogenácia dextránu

Hydrolyzovaný dextrán (2 522 kg), oddelený membránou s hraničnou hodnotou <5 000 daltonov ako permeát sa hydrolyzoval pri pH 1,5 pri teplote 95 °C. Hydrolýza sa monitorovala chromatograficky s využitím postupov gélovej permeačnej chromatografie (GPC) a ukončila sa ochladením, keď molekulová hmotnosť hydrolyzovaného materiálu dosiahla vyžadovanú hodnotu, to znamená že klesla na vážený priemer molekulových hmotností 700 až 1 400 daltonov.

Hydrolýzou sa popri pripravenom dextráne s nízkou molekulovou hmotnosťou vytvorila ale aj glukóza. Po ochladení a neutralizácii sa množstvo glukózy a oligomérov s veľmi nízkymi molekulovými hmotnosťami znížilo membránovými procesmi s hraničnou hodnotou 340 až 800 daltonov. Po tomto procese sa stanovil obsah dextránu pomocou optickej otáčavosti (α_D^{20} ~200) a bol 1 976 kg, množstvo redukujúceho cukru sa stanovilo použitím Somogyiho činidla a bolo 36,8 %.

Redukčná kapacita sa znížila pôsobením bórhydridu sodného. Na 1 976 kg dextránu sa pridalo 57 kg bórhydridu sodného pri zásaditom pH.

Po spracovaní s bórhydridom sodným sa stanovila redukčná kapacita roztoku na úrovni 1,5 %.

Roztok sa potom zneutralizoval na pH <7,0 a následne deionizoval. Chromatograficky sa stanovili priemerné molekulové hmotnosti a rozdelenie molekulových hmotností.

Chromatografia tiež potvrdila, že sa dosiahli vyžadované ukazovatele, to znamená že 90 % (podľa hmotnosti) dextránu má molekulové hmotnosti menej ako 2 700 daltonov a že vážený priemer molekulových hmotností (M_w) zvyšných 10 %

hmotnostnej frakcie dextransu s najvyššími molekulovými hmotnosťami je pod 3 200 daltonov. Hodnota M_w bola 1 217 a M_n 845 daltonov. Výsledné množstvo dextransu po deionizácii bolo 1 320 kg a bolo sstanovené podľa optickej otáčavosti.

b) Syntéza železitého dextransu

Pripravený dextrans v bode a) (120 kg) sa vo forme 18 % roztoku zmiešal s 150 kg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Zmes sa miešala a pridalo sa 93 kg Na_2CO_3 vo forme vodného nasýteného roztoku a potom sa zvýšilo pH na 10,5 pridaním 24 litrov koncentrovaného roztoku NaOH (27 % hmotnosť/objem).

Zmes získaná týmto spôsobom sa zahrieva nad 100 °C až až sa roztok zmenil na čierny alebo tmavohnedý koloidný roztok, ktorý možno filtrovať filtrom s pórmí 0,45 μm ; roztok sa ochladil. Po ochladení sa roztok neutralizoval s 12 litrami koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej až do pH 5,80 a čistil sa membránovým procesom až obsah chloridov v roztoku bol nižší ako 0,68 %, počítané na základ roztoku s obsahom 5 % (hmotnosť/objem) železa.

Ak obsah chloridov v roztoku bol nižší ako sa vyžaduje na dosiahnutie izotonického roztoku, pridal sa chlorid sodný a pH sa nastavilo na konečnú hodnotu 5,6; roztok sa filtroval membránovým filtrom s pórmí 0,45 μm (alebo voliteľne s 0,2 μm pórmí).

Roztok sa potom sušil v rozprachovej sušiarňi a vyrobený práškový železitý dextransový prášok bol spôsobilý na dodávanie alebo na ďalšie spracovanie.

Miesto sušenia v rozprachovej sušiarňi možno prípravu injekčných roztokov alternatívne uskutočniť priamo z kvapaliny, ktorá má obsah železa napríklad 5 %, ako sa uvádza hore.

Ak sa injekčné roztoky pripravujú zo železitého dextransového prášku, prášok sa opätovne rozpustí vo vodnom prostredí, skontroluje sa pH a ak treba tak sa upraví, a roztok sa po sterilizácii filtráciou plní do ampuliek alebo liekoviek. Sterilizácia sa môže alternatívne vykonať autoklávaním po naplnení do ampuliek alebo liekoviek.

Príklad 2

a) Hydrolýta a hydrogenácia dextránu

Táto časť syntézy sa vykoná obdobne ako v časti a) príkladu 1 s výnimkou, že sa navyše použije 54 kg bórhydridu a tým sa zníži redukčná kapacita dextránu na 3,0 %.

b) Syntéza železitého dextránu

Dextrán (120 kg) pripravený podľa bodu a) tohto príkladu vo forme 18 % roztoku sa zmiešal s 300 kg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Zmes sa miešala a za miešania sa pridalo 180 kg Na_2CO_3 vo forme nasýteného vodného roztoku. Potom sa pH roztoku zvýšilo na 11,5 použitím 38 litrov koncentrovaného vodného roztoku NaOH (27 % hmotnosť/objem). Získaná zmes sa zahrievala nad 100 °C až sa roztok zmenil na čierny alebo tmavohnedý koloidný roztok, ktorý možno filtrovať filtrom s pórmí 0,45 μm ; roztok sa ochladil. Ochladený roztok sa neutralizoval použitím 25 litrov koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej až sa dosiahlo pH 5,60 a čistil sa použitím membránových procesov, až obsah chloridov sa znížil na menej ako 1,1 %, počítané na základ roztoku s obsahom 10 % (hmotnosť/objem) železa.

Do roztoku sa potom pridalo 6 kg kyseliny citrónovej, pH sa upravilo na hodnotu vyššiu ako 8,0 použitím NaOH a roztok sa stabilizoval zvýšením teploty nad 100 °C po dobu 60 minút.

Pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej sa potom upravilo pH na 5,6. V prípade, že obsah chloridov bol nižší ako sa vyžaduje pre izotonický roztok, koncentrácia chloridov sa upravila pridaním NaCl.

Roztok sa filtroval membránovým filtrom s pórmí 0,45 μm (alebo voliteľne s 0,2 μm pórmí).

Roztok sa potom sušil v rozprachovej sušiarňi a tým sa vyrobil práškový železitý dextrán.

Tento prášok je vhodný na prípravu tekutých železito-dextránových prípravkov, obsahujúcich približne 10 % (hmotnosť/objem) železa.

Príklad 3

a) Hydrolýza a hydrogenácia dextránu

Táto časť syntézy sa vykonala obdobne ako v časti a) príkladu 2.

b) Syntéza železitého dextránu

Dextrán (80 kg) pripravený podľa bodu a) tohto príkladu vo forme 10 % roztoku sa zmiešal s 400 kg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Zmes sa miešala a za miešania sa pridalo 232 kg Na_2CO_3 vo forme nasýteného vodného roztoku. Potom sa pH roztoku zvýšilo na 11,5 použitím 60 litrov koncentrovaného vodného roztoku NaOH (27 % hmotnosť/objem).

Získaná zmes sa zahrievala nad 100 °C až sa roztok zmenil na čierny alebo tmavohnedý koloidný roztok, ktorý možno filtrovať filtrom s pórmí 0,45 μm ; roztok sa ochladil. Ochladený roztok sa neutralizoval použitím 15 litrov koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej až sa dosiahlo pH 5,60 a čistil sa použitím membránových procesov až bol obsah chloridov nižší ako 1,8 %, počítané na základ roztoku s obsahom 20 % (hmotnosť/objem) železa.

Potom sa pridala hydroxykyselina - kyselina citrónová (8 kg), následne sa pomocou NaOH upravilo pH na hodnotu vyššiu ako 8,0; potom sa roztok stabilizoval zvýšením teploty nad 100 °C po dobu 60 minút.

Potom sa koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou päť upravilo pH na 5,6. V prípade, že obsah chloridov v roztoku bol nižší, ako sa vyžaduje pre izotonický roztok, koncentrácia chloridov sa upravila pridaním NaCl. Roztok sa filtroval membránovým filtrom s pórmí 0,45 μm (alebo voliteľne s 0,2 μm pórmí).

Roztok sa potom sušil v rozprachovej sušiarňi a tým sa vyrobil práškový železitý dextrán. Tento prášok je vhodný na prípravu tekutých prípravkov, obsahujúcich 20 % (hmotnosť/objem) železa.

Vo všetkých troch príkladoch bol výťažok prášku železitého dextránu vyšší ako 95 %, vyjadrený vzhľadom na množstvo železa, použitého do procesu.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Železito-dextránová zlúčenina na použitie ako zložka terapeutického prostriedku na profylaxiu alebo liečbu nedostatočnosti železa u človeka alebo zvierat parenterálnym podávaním, pozostávajúca z:

- hydrogenovaného dextránu, ktorý má vážený priemer molekulových hmotností (Mw) medzi 700 a 1 400 daltonov, výhodne približne 1 000 daltonov, číselnú priemernú molekulovú hmotnosť (Mn) 400 až 1 400 daltonov, pričom 90 % (podľa hmotnosti) dextránu má molekulové hmotnosti menej ako 2 700 daltonov a Mw zvyšných 10 % hmotnostnej frakcie dextránu s najvyššími molekulovými hmotnosťami je menej ako 3 200 daltonov; uvedený hydrogenovaný dextrán bol čistený membránovými procesmi s hranicou medzi 340 a 800 daltonmi; a
- hydroxidoxidu železitého v stabilnej asociácii s uvedeným dextránom.

2. Železito-dextránová zlúčenina podľa nároku 1, ktorá samostatne tvorí suchý prášok, alebo je ako súčasť suchého prášku.

3. Železito-dextránová zlúčenina podľa nároku 2, kde prášok, v ktorom je uvedená zlúčenina prítomná samostatne alebo ako súčasť prášku, má obsah železa 15 až 45 % hmotnostných.

4. Železito-dextránová zlúčenina podľa nároku 1, ktorá je rozpustená alebo dispergovaná vo vodnom prostredí.

5. Železito-dextránová zlúčenina podľa nároku 4, ktorá je rozpustená alebo dispergovaná vo vodnom prostredí v takom množstve, že obsah železa v roztoku alebo disperzii je 5 až 20 % (hmotnosť/objem).

6. Spôsob výroby železito-dextránovej zlúčeniny podľa nároku 1, v ktorej molekulová hmotnosť dextránu je znížená hydrolýzou a dextrán je hydrogenovaný na premenu funkčných aldehydových koncových skupín na alkoholové skupiny; hydrogenovaný dextrán vo forme vodného roztoku je kombinovaný najmenej s

jednou, vo vode rozpustnou železitou soľou; do roztoku sa potom pridá zásada za vzniku hydroxidu železitého a výsledná zmes sa zahrieva aby sa hydroxid železitý premenil na hydroxidoxid železitý ako súčasť asociovanej zlúčeniny s dextránom, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že po hydrolyze, ale pred zmiešaním so železitou soľou, rozpustnou vo vode, sa dextrán čistí jedným alebo viacerými membránovými procesmi s hraničnými hodnotami, vhodnými na zadržanie dextránu s molekulovou hmotnosťou vyššou ako 2 700 daltonov, s možnou následnou, ďalšou, hydrolyzou a jedným alebo viacerými membránovými procesmi s hraničnou hodnotou medzi 340 a 800 daltonov.

7. Spôsob podľa nároku 6, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa nasledujúce výrobné kroky:

- príprava vodného roztoku, obsahujúceho pripravený hydrogenovaný dextrán a najmenej jednu, vo vode rozpustnú železitú soľ ;
- úprava pH uvedeného vodného roztoku na hodnotu nad 10 pridaním zásady;
- zahrievanie zmesi na teplotu vyššiu ako 100 °C až sa roztok zmení na čierny alebo tmavohnedý koloidný roztok, ktorý možno filtrovať filtrom s pórmí 0,45 µm a
- ďalšie čistenie a stabilizácia s využitím filtrácie, zahrievania a membránových procesov a prídanie jedného alebo viac stabilizátorov, a voliteľne sušenie roztoku na získanie vyžadovanej železito-dextránovej zlúčeniny vo forme stabilného prášku.

8. Spôsob podľa nároku 6, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že hydrogenácia dextránov sa vykoná pomocou bórhydridu sodného vo vodnom roztoku.

9. Spôsob podľa nároku 7, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že stabilizácia zahŕňa prídanie najmenej jednej soli organickej hydroxykyseliny, výhodne vybranej z citranov.

10. Použitie zlúčeniny, obsahujúcej hydrogenovaný dextrán, ktorý má vážený priemer molekulových hmotností (Mw) medzi 700 a 1 400 daltonov, výhodne

približne 1 000 daltonov, číselnú priemernú molekulovú hmotnosť (M_n) 400 až 1 400 daltonov, pričom 90 % (podľa hmotnosti) dextransu má molekulové hmotnosti menej ako 2 700 daltonov a M_w zvyšných 10 % hmotnostnej frakcie dextransu s najvyššími molekulovými hmotnosťami je pod 3 200 daltonov; uvedený hydrogenovaný dextrán bol čistený membránovými procesmi s hraničnou hodnotou medzi 340 a 800 daltonmi; uvedený hydrogenovaný dextrán je v stabilnej asociácii s hydroxidom železitým; na prípravu parenterálne podávateľných terapeutických prostriedkov na profylaxiu alebo liečenie anémie z nedostatku železa u zvierat a človeka.

11. Spôsob výroby injekčného tekutého prípravku, obsahujúceho železito-dextránovej zlúčeniny podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa rozpustenie železito-dextránovej zlúčeniny vo forme suchého prášku vo vodnom prostredí; ak treba, upraví sa pH, voliteľne sa pridá stabilizátor; nasleduje sterilizácia kvapaliny filtráciou pred plnením do ampuliek alebo liekoviek, alebo sterilizácia autoklávaním po naplnení do ampuliek alebo liekoviek.

12. Spôsob výroby injekčného tekutého prípravku, obsahujúceho železito-dextránovej zlúčeniny podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tekutina pripravená podľa nároku 6 sa čistí, upraví sa koncentrácia železa a pH, stabilizuje a sterilizuje filtráciou pred naplnením do ampuliek alebo liekoviek, alebo sa sterilizuje autoklávaním po naplnení do ampuliek alebo liekoviek.