

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

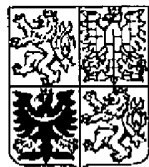
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1048-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **05. 08. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **05.08.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/9609858**

(33) Země priority: **FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 09. 98**
(Věstník č. 9/98)

(86) PCT číslo: **PCT/FR97/01452**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/05314**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/165
A 61 K 47/12
A 61 K 47/20
A 61 K 47/02
A 61 K 47/26

(71) Přihlášovatel:

SCR PHARMATOP, Versailles, FR;

(72) Původce:

Dietlin Francois, Le Vésinet, FR;

Fredj Danièle, Gif-sur-Yvette, FR;

(74) Zástupce:

**Koreček Ivan JUDr., Na baště sv. Jiří 9,
Praha 6, 16000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Nové tekuté stálé formulace na bázi
paracetamolu a jejich příprava**

(57) Anotace:

Nové stálé formulace na bázi paracetamolu v roztoku ve vodném rozpouštědle s přísadou pufru pH 4 - 8, zachycovače volných radikálů při využití probublávání vodného rozpouštědla inertním plynem nerozpustným ve vodě za účelem vypuzení kyslíku z daného prostředí. Přípravky mohou být obohaceny analgetickým činidlem s centrální nebo s periferní působností. Použití ve formě injikovatelných přípravků pro tlášení bolesti.

CZ 1048-98 A3

Nové tekuté stálé formulace na bázi paracetamolu a jejich
příprava

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká nových analgetických tekutých
stálých formulací na bázi paracetamolu sdružených či nikoliv
s analgetickým derivátem.

Je známo již řadu let, a zejména z článku J.E. Fairbrother
nazvaného :Acetaminophen, publikovaného v Analytical Profiles
of Drug Substances (1974), svazek 3, strana 1 - 109, že
paracetamol vložený do vlhkého prostředí a tím spíše je-li
veden do vodného roztoku, může být podroben hydrolýze, aby
vytvořil p-aminophenol, který má schopnost se odbourat na
chinonimin. Rychlost odbourávání paracetamolu se zvyšuje v
závislosti na teplotě a světle.

Ostatně, nestálost paracetamolu ve vodném roztoku v závislosti
na pH roztoku byla již mnohokrát popsána v odborné
literatuře. Podle článku "Stability of aqueous solutions of
N-acetyl-p-aminophenol" (Koshy K.T. a Lach J.J. - J. Pharm.
Sci., 50, (1961), strana 113 - 118) vykazuje paracetamol ve
vodném roztoku určitou nestálost, která se projevuje v první
řadě hydrolýzou jak v kyselém, tak i alkalickém prostředí.
Toto odbourávání je minimální při hodnotě pH blízké 6, kdy
poločas rozpadu dosahuje v tomto případě 21,8 let při teplotě
25° C.

Aplikace Arrheniusova zákona na podporu konstanty specifické reakce determinované těmito autory vede k výpočtu času zhruba 19 měsíců pro zaznamenání pětiprocentního titru paracetamolu vodného roztoku uchovávaného při 25° C při optimální hodnotě pH. Nezávisle na hydrolýze podléhá molekula paracetamolu jinému typu rozkladu utvářením chinoniminu schopnému polymerazizace, při které vznikají dusíkaté polymery.

Tyto polymery a zejména potom polymery N-acetyl p-benzochinoniminu byly popsány kromě jiného jako toxický, zejména cytotoxický a hemolytický metabolit paracetamolu. Rozklad tohoto metabolitu ve vodném prostředí je ještě komplexnější a vzniká při něm p-benzochinonin a hydrochinonin (D. Dahlin, J. Med. Chem. 25 (1982) 885 - 886).

Z asoučasného stavu techniky a s ohledem na požadavky kvality týkající se farmaceutické reglementace je stálost paracetamolu ve vodném roztoku z tohoto hlediska nedostatečná a neumožňuje realizaci injikovatelných tekutých farmaceutických kompozic. V důsledku toho vypracování tekutých farmaceutických forem paracetamolu, zejména pak forem injikovatelných, zůstávala bez jakéhokoliv výsledku.

Řada pokusů byla provedena s cílem omezit odbourávání paracetamolu ve vodném roztoku. V článku nazvaném : Stabilisation by éthylenediamine tétraacetic acid of amid and other groups in drug compound, (Fogg Q.G. a Summan A.M., J. Clin. Pharm. Ter., 17, (1992) 107 - 109) je uvedeno, že vodný roztok paracetamolu (0,19 %) vykazuje hladinu p-aminofenolu na bázi hydrolýzy paracetamolu dosahující 19,8 % původní

hladiny paracetamolu po uchovávání v temnu po dobu 120 dnů. Přísada EDTA v množství 0,0075 % omezí toto odbourávání zhruba na 7 %. Ostatně, destilace alkalického roztoku paracetamolu zajistí obsah amoniaku 14 % a to v přítomnosti nebo nepřítomnosti 1000 ppm kyseliny askorbové. Tato kyselina vykazuje opravdu vlastnosti vhodné pro takovouto stabilizaci. Nicméně, roztok paracetamolu s obsahem 1000 ppm kyseliny askorbové, vystavený intenzivnímu světlu, produkuje nicméně amoniak s výnosem 98 %. Naopak, přísada EDTA (0,0075 %) k tomuto roztoku omezuje odbourávání a výnos amoniaku nepřesáhne 14 %.

Přes všechny tyto snahy se nepodařilo připravit tekuté vodné roztoky paracetamolu a zejména pak ne roztoky injikovatelné, jejichž stálost by mohla být garantována.

Podstata vynálezu

Cílem předkládaného vynálezu je vyřešení tohoto problému pohodlným a uspokojivým způsobem. Vynález se týká stálých farmaceutických kompozic s obsahem paracetamolu ve vodném rozpouštědle s přísadou antiradikálového činidla. Vodným rozpouštědlem může být voda nebo vodné směsi s obsahem vody a vícemocný alkohol jako polyetylglykol (PEG) 300, 400, 1 000, 1 540, 4 000 nebo 8 000, propylenglykol nebo tetraglykol. Rovněž je možné použít alkanol rozpustný ve vodě, jako na příklad etanol.

Stálost těchto vodných roztoků není podmíněna pouze volbou vehikula. Je určována rovněž dalšími parametry, jako je

správné nastavení hodnoty pH, eliminace kyslíku rozpuštěného ve vehikulu a přísada antiradikálového činidla nebo zachycovače volných radikálů. . .

Rozpuštěný kyslík se dá snadno eliminovat probubláváním inertním plynem, nejlépe dusíkem.

Vhodné antiradikálové činidlo se vybere z derivátů kyseliny askorbové, derivát nesoucích alespoň funkci tiolu a vícemnocných nebo cyklických alkoholů.

Derivát kyseliny askorbové je výhodně kyselina D - nebo kyselina L-askorbová, askorban alkalického kovu, askorban kovu alkalických zemin nebo ester kyseliny askorbové rozpustný ve vodném prostředí.

Zachycovačem volných radikálů s funkcí tiolu, může být organická sloučenina substituovaná jednou nebo více funkcemi tiolu alifatické série jako jsou cystein, acetylcystein, kyselina tioglykolová a její soli, kyselina tiolmléčná a její soli, ditiotréitol, redukovaný glutathion, tiomočovina, alfa-tioglycerol, metionin a merkaptioetanová kyselina sulfonová.

Vícemnocný alkohol jako zachycovač volných radikálů, bývá povětšinou lineární nebo cyklický polyhydroxylovaný alkohol, jako manitol, sorbitol, inositol, izosorbid, glycerol, glukóza a propylenglykoly.

Z těchto zachycovačů volných radikálů, jejichž přítomnost je nezbytná pro stálost paracetamolu, je jakožto upřednostňovaný derivát kyseliny askorbové využíván askorban sodný. Z derivátů s funkcí tiolu jsou upřednostňovány cystein, redukovaný glutation, N-acetylcystein a kyselina merkaptetoetanosulfonová.

Sdružování několika zachycovačů volných radikálů může být výhodné do té míry, jsou-li rozpustné ve vodě a vzájemně mezi sebou kompatibilní. Obzvláště upřednostňovaný zachycovač volných radikálů je manitol, glukóza, sorbitol nebo glycerol. Tyto látky mohou být sdružovány bez jakýchkoliv problémů a potíží.

Rovněž může být výhodné přidat k přípravku činidlo nebo látky zajišťující lepší stálost molekuly z toho důvodu, že aktivní princip je citlivý na přítomnost stop kovů schopných uspišit její odbourání.

Chelatizační činidla jsou na příklad kyselina nitrilotrioctová, kyselina etylenodiaminotetraoctová, kyselina etylenodiamino NN'-dioctové NN'-dipropionová, kyselina etylenodiaminotetrafosfonová, kyselina 2,2'-(etylendimino)dimásečná nebo kyselina etylenglykolová bis(diaminoetyleter) N, N, N', N'-tetraoctová a její vápenné nebo sodné soli.

Úloha chelatizačního činidla je vytvářet komplex případně přítomných divalentních iontů (měď, zinek, kadmium), které mají určitý nepříznivý vliv na vývoj formy po dobu skladování.

Plynem použitým pro probublávání roztoku za účelem vypuzení kyslíku může být dusík nebo kysličník uhličitý nebo jiný vzácný plyn. Upřednostňovaným plynem je v této souvislosti dusík.

Izotónie přípravku může být dosaženo přísadou správně zvoleného množství chloridu sodného, glukózy, levulózy nebo chloridu vápenatého či draselného nebo glukonoglucoheptonanu vápenatého nebo jejich směsí. Upřednostňovaným izotonizačním činidlem je chlordi sodný.

Použitý pufr musí být kompatibilní s přípravkem injikovatelným člověku, jehož pH se může pohybovat v rozmezí od 4 do 8. Upřednostňované pufrы jsou na bázi octanů nebo fosfátů alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin. Obzvláště upřednostňovaným pufrem je octan sodný, hydrofenofosfát upravený na požadovanou hodnotu pH kyselinou chlorovodíkovou nebo hydroxydem sodným. Koncentrace tohoto pufru se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 10 mg/ml. Přednost se v této souvislosti dává koncentraci pohybující se v rozmezí od 0,25 do 5 mg/ml.

Ostatně, injikovatelné přípravky musí být sterilní a musí být schopné sterilizace teplem. Je dobře známo, že za určitých podmínek se mohou odbourat antioxidanty jako glutathion (Fialaire A. et al., J. Pharm. Biomed. Anal., sv. 10, č. 6, s. 457 - 460 (1992)). Stupeň odbourání glutathionu redukovaný během sterilizace teplem kolísá od 40 do 77 % v závislosti na zvolených teplotních podmínkách. Během sterilizace je plně opodstatněné využít prostředků schopných

zachovat integritu těchto antioxidantů. Přísada komplexačních látek k vodným roztokům inhibuje odbourávání tioloderivátů, jako je glutathion, teplem.

Tekuté farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu jsou přednostně kompozice injikovatelné. Koncentrace paracetamolu v roztoku se může pohybovat v rozmezí od 2 mg/ml do 50 mg/ml, jedná-li se o roztoky tzv. "ředěné", to znamená přímo připravené k infúzi intravenózní cestou a v rozmezí do 60 mg/ml do 350 mg/ml, jedná-li se o roztoky tzv. "koncentrované", to znamená určené k tomu, aby byly injikovány přímo intravenózně nebo intramuskulárně, tedy určené k tomu, aby byly zředěné ještě před podáním formou pomalé infúze. Upřednostňované hodnoty koncentrace se pohybují v rozmezí od 5 do 20 mg/ml u roztoků ředěných a od 100 do 250 mg/ml u roztoků koncentrovaných.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu mohou dále kromě jiného zahrnovat další jiný aktivní princip zintenzivňující účinek vlastní paracetamolu.

Zejména pak farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu mohou zahrnovat centrální analgetikum, jako na příklad analgetiku morfinové.

Toto morfinové analgetikum je voleno z morfinových derivátů tzv. extrakčních, hemi-syntézových nebo syntézových a z derivátů piperidinových, vybraných z následujícího seznamu, aniž by ovšem tento byl vyčerpávající : buprenorfin, ciramadol, kodein, dextrmoramid, dextropropoxyfen,

- 8 -

hydrokodon, hydromorfon, ketabemidon, levometadon, levorfanol, meptazinol, metadon, morfin, nalbufin, nikomorfin, dizocin, diamorfin, dihydrokodein, dipipanon, metorfan a dextrometorfan...

Mezi upřednostňované morfinové deriváty patří síran kodeinu nebo chlorhydrát morfinu.

Koncentrace kodeinu nebo jeho derivátu se pohybuje v rozmezí od 0,2 do 25 % koncentrace paracetamolu. Preferovaným derivátem kodeinu je síran kodeinu. Jeho nejčastější koncentrace se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 15 % koncentrace paracetamolu.

Koncentrace morfinu nebo jeho derivátu se pohybuje v rozmezí od 0,05 do 5 % koncentrace paracetamolu. Preferovaným derivátem morfinu je chlorhydrát morfinu. Jeho preferovaná koncentrace se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 15 % koncentrace paracetamolu.

Kompozice podle předkládaného vynálezu mohou být obohaceny protizánětlivým činidlem typu AINS a zejména pak derivátem kyseliny fenyloctové. Příkladem takovýchto činidel je ketoprofen, flurbiprofen, kyselina tiaprofenová, kyselina niflumová, diklofenak nebo naproxen.

Kompozice podle předkládaného vynálezu mohou být dále doplněny činidlem proti dávení buď neuroleptickým s centrální působností jako je haloperidol nebo chlorpromazin nebo

- 9 -

metopimazin nebo s působností gastrokinetickou jako je metochlopramid nebo dompéridon nebo jiné serotoninergické činidlo. Kompozice podle předkládaného vynálezu mohou být rovněž doplněny antiepileptickým medikamentem jako je valproat sodný, chlonazepam, karbamazepin nebo fenytoin.

K paracetamolu je možno také přidat kortikosteroid jako na příklad prednizon, prednizolon, metylprednizon, dexametazon, betametazon nebo jeden z jejich esterů.

K paracetamolu je možné rovněž přidat vhodné tricyklické antidepresivní činidlo jako amitriptilin, imipramin nebo chlomidipramin.

Koncentrace protizánětlivých činidel mohou být odstupňovány od 0,100 g do 0,500 g na 1.000 ml přípravku.

Pokud jde o roztoky koncentrované

Použité množství vody vyjádřené procentem přesahuje povětšinou 5 % finálního objemu a převážně se pohybuje v rozmezí od 10 do 65 %.

Použité množství propylenglykolu vyjádřené procentem přesahuje povětšinou 5 % a převážně se pohybuje v rozsahu od 20 do 50 %.

Jako PEG se povětšinou používá PEG 300, PEG 400, PEG 1000, PEG 1540 nebo PEG 4000. Koncentrace se pohybují v rozsahu od 10 do 60 %. PEG 300 a PEG 400 jsou pak obzvláště

- 10 -

upřednostňovány. Nejčastěji se používají koncentrace od 20 do 60 %.

Koncentrace etanolu se pohybují od 0 do 30 % finálního objemu a povětšinou pak od 0 do 20 %. Koncentrace tetraglykolu nepřesahují 15 % s přihlédnutím k maximálnímu denně aplikovatelnému množství parentální cestou, totiž 0,7 ml/kg tělesné hmotnosti.

Koncentrace glycerolu kolísá od 0,5 do 5 % v závislosti na viskozitě prostředí s ohledem na způsob aplikace.

Pokud jde o roztoky ředěné

Použité množství vody vyjádřené procentem přesahuje 20 % finálního objemu a povětšinou se pohybuje od 25 do 100 %.

Použité množství propylenglykolu vyjádřené procentem se pohybuje d 0 do 10 %.

Ponejvíce se používá PEG 300, PEG 400 nebo PEG 4000. Preferovaný je PEG 4000. Upřednostňované koncentrace se pohybují v rozsahu od 0 do 10 %. Koncentrace tetraglykolu nepřesahují 5 %. Většinou se pohybují v rozsahu od 0 do 4 %.

Koncentrace kyseliny askorbové nebo jejího derivátu přesahuje povětšinou 0,05 mg/ml, ponejvíce se využívá koncentrace pohybující se v rozsahu od 0,15 mg/ml do 5 mg/ml. Může být využito i vyšších množství, ovšem v závislosti na hodnotách rozpustnosti.

Vyšší dávky kyseliny askorbové nebo jejího derivátu jsou aplikovány preventivně nebo kurativně.

Koncentrace tiolového derivátu se pohybuje v rozmezí od 0,001 do 30 %, ponejvíce v rozmezí od 0,005 do 0,5 % pokud jde o roztoky ředěné a v rozmezí od 0.1 do 20 % pokud jde o roztoky koncentrované.

Hodnota pH roztoku se nastavuje povětšinou s přihlédnutím k optimální hodnotě stálosti paracetamolu ve vodném roztoku, to znamená na hodnotu pH přibližně 6,0.

Takto připravená kompozice je upravena do skleněných zapečetěných ampulí nebo zazátkovaných skleněných lahviček nebo do polymerových jako na příklad polyetylenových lahviček, nebo do měkkých polyetylenových, polyvinylchloridových nebo polypropylenových kapes.

Kompozice může být sterilizována tepelně, na příklad při 121° C po dobu 20 minut nebo sterilizační filtrací.

V současné době jsou podle předkládaného vynálezu preferované následující kompozice :

Koncentrované roztoky

Složka	Injektivatelný roztok - samotného paracetamolu (na ml)	Injektivatelný roztok paracetamolu s morfinikem (na ml)	
		Kodein	Morfin
Paracetamol	0,160 g	0,160 g	0,160 g
Sulfát kodeinu 3 H ₂ O	-	0,0036 g	
Chlorhydrát morfinu 3 H ₂ O	-	-	0,00037 g
Propylenglykol	0,270 ml	0,270 ml	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml	0,360 ml	0,360 ml
Octan sodný	0,002 g	0,002 g	0,002 g
Glutation redukovaný	0,002 g	0,002 g	0,002 g
Kys.chloro-vodíková 1N	qsp pH 6,0*	qsp pH 6,0*	qsp pH 6,0*
Voda pro injektivatelné přípravky	qsp 1.000 ml	qsp 1.000 ml	qsp 1.000 ml
Dusík	qsp probublávání	qsp probublávání	qsp probublávání

- * Indikovaná hodnota pH je skutečnou hodnotou pH. Získá se měřením pH po ředění na 1/5 roztoku destilovanou vodou. Zjevná hodnota pH čistého roztoku je odlišná.

Tento roztok rozpouštědlové směsi 30 % propylenglykolu, 40 % polyetylenglykolu 400 a 30 % vody (roztok č. 20) umožňuje uvést do roztoku zhruba 200 mg/ml paracetamolu při 20° C.

-13-

Koncentrace 160 mg/ml umožňuje vyhnout se jakémukoliv nebezpečí překrystalování, zejména pak při nízké teplotě. Za těchto podmínek zahrnuje objem 6,25 ml uvedeného roztoku 1000 mg paracetamolu.

Ředěné roztoky

Složka	Roztok samotného	Roztok paracetamolu s kodeinem (na ml)	
	paracetamolu (na ml)	Morfinikem je kodein	Morfinikem je morfin
Paracetamol	0,0125 g	0,125 g	0,125 g
Sulfát kodeinu			
3 H ₂ O	-	0,00018 g	-
Chlorhydrát morfinu 3 H ₂ O	-	-	0,000019 g
Mannitol	0,025 g	0,025 g	0,025 g
Dihydratovaný hydrogenofos-			
fát sodný	0,00025 g	0,00025 g	0,00025 g
Chlorid sodný	0,0020 g	0,0020 g	0,0020 g
Sekundární etylen diamino tetraacetát sodný	0,0001 g	0,0001 g	0,0001 g
Kys.chloro-vodíková či hydroxyd sodný	qsp pH 5,5	qsp pH 5,5	qsp pH 5,5
Voda pro injik.			
přípravky	qsp 1,000 ml	qsp 1,000 ml	qsp 1,000 ml
Dusík	qsp probublávání	qsp probublávání	qsp probublávání

Kompozice podle předkládaného vynálezu jsou využívány v terapeutice jako prostředky tišící bolest. V případě mírných bolestí obsahují použité roztoky pouze paracetamol. V případě prudkých, úporných bolestí obsahují roztoky navíc ještě analgetikum na bázi morfinu. Ostatně, paracetamolové roztoky mají výrazné antipyretické vlastnosti.

Příklady provedení vynálezu

Příklad I

Určení optimální rozpouštědlové směsi

1.1 Koncentrované roztoky

Zvýšené množství paracetamolu bylo introdukováno do směsí rozpouštědel. Vzhledem k tomu, že se rychlost rozpouštění paracetamolu se zvyšuje s teplotou, byly pokusy zaměřené na uvádění do roztoku v těchto různých prostředích provedeny při zahřátí směsi rozpouštědel na 60° C. Po úplném rozpuštění paracetamolu byly roztoky umístěny na dobu 72 hodin do prostředí o teplotě 25° C a 4° C.

Zjištěné hodnoty rozpustnosti jsou uvedeny v následující tabulce :

Pokus č.1	Voda /ml/	Propylen glykol /ml/	PEC 400 /ml/	Etanol /ml/	Tetragly kol /ml/	Rozpust nost při +4°C /mg/ml/	Rozpust nost při +25°C /mg/ml/
1	0,3	0,4	0,3	-	-	110	130
2	0,4	0,3	0,3	-	-	110	130
3	0,15	0,3	0,4	-	0,15	190	230
4	0,5	-	0,5	-	-	110	150
5	0,4	0,3	0,2	0,1	-	< 110	120
6	0,5	0,3	0,1	0,1	-	< 100	130
7	0,4	0,4	0,1	0,1	-	< 100	150
8	0,5	0,3	0,2	-	-	< 100	120
9	0,6	0,3	0,1	-	-	< 100	< 100
10	0,5	0,4	0,1	-	-	< 100	110
11	0,55	0,3	0,05	0,1	-	< 100	< 100
12	0,45	0,4	0,05	0,1	-	< 100	120
13	0,65	0,3	0,05	-	-	< 100	< 100
14	0,55	0,4	0,05	-	-	< 100	< 100
15	0,4	0,4	0,2	-	-	< 100	150
16	0,45	0,45	0,1	-	-	< 100	110
17	0,4	0,2	0,4	-	-	160	200
18	0,5	0,2	0,3	-	-	100	160
19	0,5	0,1	0,3	0,1	-	100	190
20	0,3	0,3	0,4	-	-	190	200
21	0,3	0,2	0,35	-	0,15	160	210
22	0,25	0,25	0,35	-	0,15	170	220

Rozpustnost ve směsích rozpouštědel se však ne vždy zvyšuje spolu s teplotou. Přísada etanolu rozpustnost nijak nezvyšuje.

Kromě toho, v důsledku přesycení, které se u takovýchto roztoků objevuje, zejména pak v prostředí obsahujícím PEG, zaznamenáváme určité zpoždění krystalizace po zchlazení. Za těchto podmínek byly tyto roztoky udržovány po dobu 14 dnů při teplotě 20° C a pak se přidal do roztoků nevykazujících žádné krystalky po uplynutí této doby krystalek paracetamolu za účelem vyvolání krystalizace případně přesycených roztoků. Nejvyšší rozpustnost paracetamolu v rozmezí od 160 mg/ml do 170 mg/ml v závislosti na teplotě vykázal roztok č. 20 nebo roztok č.3.

1.2 Ředěné roztoky

Množství paracetamolu značně přesahující hranici rozpustnosti byla introdukována do směsí rozpouštědel zahřátých na 30° C. Po protřepání a zchlazení na 20° C byly roztoky přefiltrovány. Obsah paracetamolu v těchto roztocích je určen na bázi absorbance při 240 nm zředění na 1/200 filtrátu.

Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách.

- 17 -

Povaha roztoku (není-li uvedeno jinak, je hlavním rozpuštědlem destilovaná voda)	Koncentrace paracetamolu (mg/50 ml)
Voda	720
Glukóza 5 %	710
Levulóza 4,82 %	730
Mannitol 7 %	680
Sorbitol 5 %	685
Chlorid sodný 0,9 %	615
Glukonoglucoheptonát vápenatý 10 %	670
Lestradetův roztok (glukóza 5 %, chlorid sodný 0,2 %, chlorid draselný 0,15 %, glukonoglucoheptonát vápenatý 1,1 %)	730
Ringerův roztok (chlorid sodný 0,7 %, chlorid draselný 0,1 %, chlorid sodný 0,013 %)	730 .
Ringerův fosfátový roztok (chlorid sodný 0,7 %, primární fosforečnan draselný 0,182 %, chlorid vápenatý 0,013 %)	710
Ringerův octanový roztok (chlorid sodný 0,7 %, octan draselný 0,131 %, chlorid vápenatý 0,013 %)	715
Močovina 0,3 molární	725

- 18 -

Povaha roztoku (následné roztoky byly připraveny v Ringerově roztoku)	Koncentrace paracetamolu (mg/50 ml)
Čistý Ringerův roztok	735
+PEG 4000 4,0% + propylenglykol 1,0%	
+ etanol 0,5 %	905
+PEG 4000 4,0% + propylenglykol 1,0%	
+ etanol 1,0%	905
+PEG 4000 4,0% + propylenglykol 1,0%	
+ etanol 2,0 %	930

Povaha roztoku (následné roztoky byly připraveny v roztoku chloridu sodného 0,9%)	Koncentrace paracetamolu (mg/50 ml)
Chlorid sodný 0,9 %	615
+ Tetraglykol 0,6 %	640
+ Tetraglykol 1,2 %	680
+ Tetraglykol 3,0 %	720
+ PEG 4000 1,0 %	630
+ PEG 4000 1,0 % + Tetraglykol 0,6 %	660
+ PEG 4000 1,0 % + Tetraglykol 1,2 %	710
+ PEG 4000 3,0 % + Tetraglykol 2,0 %	950

Přítomnost PEG zvyšuje rozpustnost paracetamolu. Byly určeny hodnoty rozpustnosti paracetamolu ve směsích PEG 4000 a roztoku chloridu sodného 0,9 % v destilované vodě při koncentraci d 0 do 7 % v závislosti na teplotě. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce :

- 19 -

Objem (ml) rozpouštědla nutného
pro uvedení 1000 mg paracetamolu
do roztoku v závislosti na teplotě

Koncentrace PEG 4000 (%/v)
v roztoku chloridu sodného

0,9 %	4°C	17°C	22°C	30°C	42°C
0 %	130	92	80	65	42
1 %	99	78	67	63	47
2 %	91	72	63	59	45
3 %	80	64	56	54	41
4 %	82	62	57	49	36
5 %	79	59	51	46	34
7 %	78	61	48	42	30

4.1 Koncentrovaný roztok

Složka	Množství	
	Roztok bez probublávání N	Roztok s probublávání N
Paracetamol	0,160 g	0,160 g
Propylenglykol	0,270 ml	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml	0,360 ml
Hydroxid sodný či HCl 1N	qsp pH 6,0	qsp pH 6,0
Dusík	0	qsp probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1,000 ml	qsp 1,000 ml

Roztok 20 obsahující paracetamol v množství 160 mg/ml, s hodnotou pH 6,0 upravenou pomocí hydroxidu sodného nebo kyseliny chlorovodíkové 1N byl podroben probublávání dusíkem. Lahvičky naplněné pod dusíkem nebo vzduchem 10 ml těchto

- 20 -

roztoků, pečlivě uzavřené a zapečetěné, byly sterilizovány v autoklávu po dobu 20 minut při teplotě 121° C. Následně bylo kapalnou chromatografií zjištěno procento sekundárních vrcholů v poměru k hlavnímu vrcholu paracetamolu, jakož i intenzita růžového zbarvení změřením absorbance roztoku absorpční spektrofotometrií při maximální délce absorpční vlny, t.j. 500 nm. Dosažené výsledky jsou shrnuty v následujících tabulkách uvedených na následujících stránkách.

Výsledky

Testovaný roztok	Sekundární špičky v % hlavní špičky para- cetamolu	Absorbance roztoku při 500 nm
Roztok ošetřený v autoklávu bez N	0,054	0,08
Roztok ošetřený v autoklávu s N	0,036	0,03

Rozdílné zbarvení roztoku pod dusíkem je tedy velmi výrazné. Aby bylo možno prověřit, že roztok paracetamolu při 0 % a 1 % PEG zůstává v podmínkách chladu čirý, bylo použito následujících roztoků :

Složka	Roztok bez PEG	Roztok s PEG 1%
Paracetamol	1 g	1 g
PEG 400	-	1 g
Roztok chloridu sodného 0,9% ve vodě pro injek. přípravky	qsp 125 ml	qsp 100 ml

Po uložení těchto roztoků po dobu 10 dnů při teplotě 4° C žádná testovaná lahvička nevykazovala krystalizaci. Přítomnost PEG tedy není nezbytná pro zachování čirosti roztoku po sledovaný časový úsek.

Příklad II

Pokusy zaměřené na určení povahy rozkladu paracetamolu v roztoku

2.1 - Prokázání nestálosti paracetamolu v roztoku

Roztok paracetamolu ve vodě nebo v roztoku č. 20 se velmi rychle zbarví do růžova v důsledku vystavení světlu nebo vystavení vyšší teplotě. Při 50° C dojde k tomuto zbarvení po 2 týdnech. Aplikace tohoto zbarvení se projeví zvýšením absorbance roztoku na maximální hodnotu 50 nm. Podle výše zmíněného článku Fairbrothera může vystavení paracetamolu vlhkosti vést k hydrolýze v para-aminofenolu následované oxidací provázenou růžovým zbarvením, což je charakteristický znak utváření chinoniminu.

2.2 - Povaha produktů odbourávání paracetamolu

Ve vodných nebo částečně vodných roztocích již p-aminofenol v průběhu konzervace nezaznamenáme. Velice rychle se tvoří sloučeniny zbarvené do růžova, přičemž rychlost reakce závisí na teplotních a světelných podmínkách. V průběhu času se intenzita zbarvení těchto derivátů zvýší a deriváty hnědnou. Všechno tedy probíhá, jakoby oproti tomu, co je uvedeno v odborné literatuře vyžadovalo odbourání paracetamolu oxidativní proces a následně pak hydrolýzu. Za této domněnky by mohl paracetamol vestoupit do reakce s oxidačním činidlem obsaženým v roztoku, na příklad kyslíkem rozpuštěným ve vodné fázi. Tento mechanismus by vyvolal utváření volných radikálů umožňujících molekulární vazby, které odpovídají za utváření zbarvených derivátů, jejichž barva přechází od růžové do hnědé.

2.3 - Pokusy s inhibicí utváření radikálových sloučenin

Typická reakce podmiňující proces utváření volných radikálů je vyvolána přísadou vodného roztoku okysličené vody (30 %) a pentahydratovaného síranu měďnatého (62,5 mg/ml) k vodnému roztoku paracetamolu (1,25 %). Během několika minut začne reakce zbarvování od žluté do tmavohnědé barvy. Intenzita dosaženého zbarvení se snižuje, jestliže se přidají předběžně k roztoku paracetamolu zachycovače volných radikálů a glycerol. Intenzita zbarvení závisí na povaze přidávaných zachycovačů volných radikálů v následném sestupném pořadí intezity :

samotný paracetamol > paracetamol + N-acetylcystein >
paracetamol + cystein > paracetamol + sorbitol > paracetamol
+ mannitol > paracetamol + glycerol.

Příklad III

Stabilizace paracetamolu v roztoku volbou pH optimální stability

3.1 - Koncentrovaný roztok

Testovaný roztok

Složka	Množství
Paracetamol	0,160 g
Propylenglykol	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml
Hydroxyd sodný 1N	pH 7,0-8,0-8,5-9,0-9,5-10,0
nebo kyselina chloro- vodíková 1N qsp	odpovídá skutečné pH : pH 5,8-6,7- 7,1 - 8,0 - 8,5
Dusík qsp	probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1,000 ml

Roztok č. 20 obsahující paracetamol v množství 160 mg/ml byl upraven na různou hodnotu pH : pH aparentní po pH skutečnou po ředění na 1/5 (v závorce) : 7,0 (5,8) - 8,0 (6,7) - 8,5 (7,1) - 9,0 (7,5) - 9,5 (8,0) - 10,0 (8,5) na roztok hydroxydu sodného nebo kyseliny chlorovodíkové. Lahvičky naplněné pod dusíkem množstvím 10 ml těchto roztoků, pečlivě uzavřené a zapečetěné, byly v autoklávu sterilizovány při 121° C po dobu 20 minut a pak ve všech případech vystaveny buď teplotě 105° C ve tmě po dobu 72 hodin nebo záření aktinického světla 5000°K při 25° C po dobu 264 hodin.

Výsledky

Po ošetření v autoklávu vykázal růžové zabarvení pouze roztok s hodnotou pH 10. Po konzervaci při 105° C po dobu 72 hodin se pohybovala absorbance při 500 nm a obsah produktů procesu odbourání paracetamolu v rozsahu pH od 7,0 do 9,5. Po konzervaci při světle se intenzita zabarvení zvýšila s hodnotou pH. Minimální je při pH 7,0 (skutečná 5,8). Ani obsah paracetamolu, ani obsah produktů odbourání nebyly hodnotou pH nijak ovlivněny.

3.2 - Ředěný roztok

Testovaný roztok

Složka	Množství
Paracematol	0,008 g
Chlorid sodný	0,0067 g
Dihydratovaný sekundární fosforečnan sodný	0,0012 g
Kyselina citrónová (5%)	qsp pH 5,0-6,0-7,0
Dusík	qsp probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1,000 ml

- 24 -

Ředěný a pufrovaný vodný roztok s obsahem paracetamolu (8 mg/ml) byl upraven na různou hodnotu pH : pH 5,0 - 6,0 - 7,0 pomocí roztoku kyseliny citrónové. Lahvičky naplněné pod dusíkem 10 ml těchto roztoků, pečlivě uzavřené a zapečetěné, byly sterilizovány (nebo také ne) v autoklávu při 121° C po dobu 20 minut, následně pak, ve všech případech, vystaveny teplotě 70° C ve tmě po dobu 231 hodin.

Výsledky

Po ošetření v autoklávu vykazoval pouze roztok s hodnotou pH 7 růžové zabarvení. Po konzervaci vykázal stejný roztok nejintenzivnější růžové zabarvení. Při hodnotě pH 6,0 a 5,0 vykazují roztoky jen slabé zabarvení.

Příklad IV

Stabilizace paracetamolu v roztoku eliminací kyslíku probubláváním dusíkem.

4.2 . Ředěný roztok

Testovaný roztok

Složka	Množství	
	Roztok probubláný dusíkem	Roztok neprobubláný dusíkem
Paracetamol	0,008 g	0,008 g
Chlorid sodný	0,008 g	0,008 g
Dihydrogenufosforečnan sodný	0,001 g	0,001 g
Kyselina citrónová (5 %)	qsp pH 6,0	qsp pH 6,0
Dusík	0	qsp probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1,000 ml	qsp 1,000 ml

-25-

Ředěný vodný roztok s obsahem paracetamolu se upraví na pH 6,0 pomocí roztoku kyseliny citrónové. Lahvičky naplněné pod dusíkem 10 ml těchto roztoků, pečlivě uzavřené a zapečetěné, jsou ošetřovány v sušicí komoře při 98° C po dobu 15 hodin. Následně se pomocí kapalně chromatografie měří procento sekundárních vrcholů v poměru k hlavnímu vrcholku paracetamolu, jakož i intenzita růžového zbarvení změřením absorbance roztoku absorpční spektrofotometrií při maximální vlnové absorpční délce 500 nm.

Výsledky

Testovaný roztok	Sek.vrcholky v % hlavního vrcholku paracetamolu	Absorbance roztoku při 500 nm
Roztok upravený bez dusíku	1,57	0,036
Roztok upravený s dusíkem	0,44	0,016

Růžové zabarevní roztoku upraveného pod dusíkem je výrazně slabší než zbarvení po sterilizaci pod dusíkem roztoku upraveného bez dusíku.

Příklad V

Stabilizace roztoků paracetamolu přísadou antiradikálních žinidel

5.1 - Koncentrovaný roztok

Složka	Množství
Paracetamol	0,160 g
Propylenglykol	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml
Kyselina chlorovodíková	
1N nebo Na-OH 1N qsp	pH 6,0
Zachycovač volných radikálů	qs (viz # výsledky)
(viz výsledky)	
Dusík qsp	probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné	
přípravky	qsp 1,000 ml

Takto připravené roztoky jsou rozděleny do lahviček po 10 ml, ty jsou pak pečlivě uzavřené brombutylovou zátkou a zapečetěné hliníkovou kapslí. Po ošetření v autoklávu při 121° C po dobu 20 minut byly lahvičky konzervovány po dobu 48 hodin buď při aktinickém světle 5500°K a při teplotě okolního prostředí nebo při 70° C a ve tmě. Bylo sledováno případné zabarvení přípravku.

Výsledky

Zachycovač volných radikálů	Koncentrace	Vzhled roztoku pod světlem	Vzhled roztoku při 70° C
		Barva	Intenzita
Bez zachycovače	-	Růžová	(+)
		Růžová	(++)
Sekundární siřičitan sodný	0,295 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý
Askorban sodný	1,0 mg/ml	Barva žlutá (+)	Barva žlutá (+)
Redukovaný glutation	1 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý

-27-

Redukovaný glutation	8 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý
Chlorhydrato- vaný cystein	1 mg/ml	Roztok zakalený	Roztok zakalený
α -monotio- glycerol	1 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý
Ditiotréitol	1 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý
Mannitol	50 mg/ml	Roztok bezbarvý	Roztok bezbarvý

5.2 - Roztok ředěný

Testované roztoky

Složka	Množství		
	Formulace		
	A	B	C
Paracetamol	0,008 g	0,01 g	0,0125 g
Chlorid sodný	0,008 g	0,008 g	0,00486 g
Dihydratovaný sekundární fosforečnan sodný nebo octan sodný	0,001 g	0,001 g	0,00125 g
Kyselina chlorovodíková C.R.L.	qsp pH 6,0	qsp pH 6,0	qsp pH 5,5
Dusík	qsp	qs (viz φ výsledky)	
Voda pro injikovatelné přípravky	probublávání a plnění qsp 1,000 ml		

- 28 -

Takto připravené roztoky byly rozděleny do lahviček po 10, 80 nebo 100 ml, lahvičky byly následně uzavřené brombutylovou zátkou a zapečetěné hliníkovou kapslí. Bylo sledováno případné růžové zabarvování přípravku.

Po ošetření v autoklávu při 121° C po dobu 20 minut byly lahvičky konzervovány po dobu 48 hodin buď v aktinickém světle 5500° K při teplotě okolního prostředí nebo při 70° C ve tmě (formulace A).

Po ošetření v autoklávu při 124° C po dobu 7 minut byly lahvičky konzervovány po dobu 48 hodin při teplotě okolního prostředí ve tmě (formulace B a C). Bylo sledováno případné růžové zabarvování přípravku a jednalo-li se o derivát tiolu byl dávkován paracetamol jakož i C.R.L.

Výsledky

Použitý C.R.L.		Koncentrace		Vzhled roztoku při světle		Vzhled roztoku při 70° C	
				Barva	Intenzita	Barva	Intenzita
Bez C.R.L.				Růžová	(+)	Růžová	(++)
Tiomočovina	0,5 mg/ml	Roztok		Roztok		Roztok	
		bezbarvý		bezbarvý		bezbarvý	
Ditiotréitol	1 mg/ml	Roztok		Roztok		Roztok	
		bezbarvý		bezbarvý		bezbarvý	
α-monotioglyce- rol	1 mg/ml	Roztok		Roztok		Roztok	
		bezbarvý		bezbarvý		bezbarvý	
Glutation	1 mg/ml	Roztok		Roztok		Roztok	
		bezbarvý		bezbarvý		bezbarvý	

-29-

Askorban sodný	0,2 mg/ml	Roztok	Roztok
		růžový (+)	růžový (+)
	0,4 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	žlutý (+)
	0,6 mg/ml	Roztok	Roztok
		růžový (+)	žlutý (+)
	1,0 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	žlutý (+)

Chlorhydratova-

ný cystein	0,05 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	0,1 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	0,25 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	0,05 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	0,75 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	1 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	2 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý
	5 mg/ml	Roztok	Roztok
		bezbarvý	bezbarvý

- 30 -

Použitý C.R.L. Koncentrace		Vzhled	Dávkování (v % teorie)	
		roztoku		
		Barva intenzita	C.R.L.	Paracetamol
Cystein	0,2 mg/ml	0	80 %	99,2 %
hydrochlorid				
monohydrát				
Cystein	0,5 mg/ml	0	95 %	99,6 %
hydrochlorid				
monohydrát				
N.acetyl-				
cystein	0,2 mg/ml	0	88 %	99,2 %
Mannitol	20 mg/ml	0		
Mannitol	40 mg/ml	0		
Mannitol	50 mg/ml	0		
Glukóza	50 mg/ml	0		

Příklad VI

Stabilizace roztoků paracetamolů s obsahem morfinního derivátu přísadou zachycovače volných radikálů

6.1 - Koncentrovaný roztok

Testované roztoky

Složka	Množství
Paracetamol	0,160 g
Fosfát kodeinu	0,008 g
Propylenglykol	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml
Kyselina chlorovodíková 1N	qsp
Zachycovač volných radikálů	qsp pH 6,0
Voda pro injikovatelné přípravky	qs (viz#-výsledky)
	qsp 1,000 ml

- 31 -

Takto připravené roztoky jsou rozděleny do lahviček po 10 ml, uzavřeny brombutylovou zátkou a hliníkovou kapslí. Po ošetření v autoklávu při 121° C po dobu 20 minut byly lahvičky konzervovány po dobu 48 hodin buď ve aktinickém světle 5500°K při teplotě okolního prostředí nebo při 70° C ve tmě. Sledováno bylo případné zabarvení přípravku.

Výsledky

Zachycovač volných radikálů	Koncentrace	Vzhled roztoku při světle		Vzhled roztoku při 70° C	
		Barva	Intenzita	Barva	Intenzita
Bez zachycovače	-	růžová	(+)	růžová	(++)
volných radikálů					
Disulfit					
sodný	0,295 mg/ml	žlutá	(+)	žlutá	(++)
Askorban					
sodný	1,0 mg/ml	žlutá	(++)	žlutá	(+++)
Redukovaný glutathion	1 mg/ml	žlutá	(+)	žlutá karamel	(+++)
	8 mg/ml	0		žlutá	(++)
	16 mg/ml	0		žlutá	(+)
Ditiotréitol	1 mg/ml	růžovofial.	(+++)	růžovofial.	(++++)
Fosfornan					
sodný	5 mg/ml	růžová	(+)	růžová	(++)

6.2 - Ředěný roztok

Testované roztoky

Složka	Množství
Paracetamol	0,008 g
Fosfát kodeinu	0,0004 g
Chlorid sodný	0,008 g
Dihydratovaný sekundární fosforečnan sodný	0,0015 g
Kyselina chlorovodíková	qsp pH 6,0
Zachycovač volných radikálů	qs (# výsledky)
Dusík qsp	probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1.000 ml

Takto připravené roztoky byly rozděleny do lahviček po 10 ml, uzavřené brombutylovou zátkou a hliníkovou kapslí. Po ošetření v autoklávu při 121° C po dobu 20 minut byly lahvičky konzervovány po dobu 48 hodin buď při aktinickém světle 55° K při teplotě okolního prostředí nebo při 70° C ve tmě. Sledováno bylo zbarvení přípravku.

U roztoku neobsahujícího zachycovač volných radikálů a u roztoku s obsahem 0,5 mg/ml chlorhydrátu cysteinu jakožto antiradikálového činidla byl dávkován paracetamol a kodein prostřednictvím kapalně chromatografie, bezprostředně po ošetření v autoklávu, komparativně ke stejným roztokům neošetřeným v autoklávu.

-33-

Výsledky testů vzhledu roztoků

Zachycovač	Koncentrace		Vzhled roztoku		Vzhled roztoku	
			při světle		při 70°C	
			Barva	Intenzita	Barva	Intenzita
Bez zachycovače	-		růžová	(+)	růžová	(+)
Disulfit sodný	0,295 mg/ml	0			0	
Ditiotréitol	0,5 mg/ml	0			0	
Monotio- glycerol	0,5 mg/ml	šedá			šedá	
Redukovaný glutathion	2,0 mg/ml	0			0	
N-acetyl- cystein	2,0 mg/ml	šedá	(+)		šedá	(+)
Chlorhydrát cysteinu	0,05 mg/ml	0			růžová	(+)
	0,1 mg/ml	0			0	
	0,25 mg/ml	0			0	
	0,5 mg/ml	0			0	
	0,75 mg/ml	0			0	
	1,0 mg/ml	0			0	
	2,0 mg/ml	0			0	
	5,0 mg/ml	0			0	

Výsledky sledování dávkování paracetamolu a kodainu

(viz následující tabulka)

-34-

Testované roztoky	Dávkovaná složka	Roztok nesterili- zovaný	Po sterilizaci
Roztok bez zachycovače volných radikálů	Paracetamol Kodein	0,0078 g/ml 0,00043 g/ml	0,0077 g/ml 0,00042 g/ml
Roztok obsahující 0,5 mg/ml chlorhydrátu cysteinu	Paracetamol Kodein	0,0082 g/ml 0,00042 g/ml	0,0081 g/ml 0,00042 g/ml

Můžeme tedy konstatovat jednak nulové zabarvení a jednak dokonalou konzervaci účinných látek po tepelné sterilizaci.

Příklad VII

Biologická tolerance přípravku

7.1 - Hematologická tolerance

Testovaný roztok

Složka	Množství
Paracetamol	0,160 g
Propylenglykol	0,270 ml
PEG 400	0,360 ml
Dusík qsp	proubílavání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1,000 ml
pH tohoto roztoku nebylo upravováno. Aparentní pH je 7,6, pH skutečná pak 6,5.	

- 35 -

Lidská krev se inkubuje s testovaným roztokem při stejném objemu. Každých 10 minut se odebírají 2 ml směsi a po dobu 5 minut jsou při 5000 otáčkách/minutu odstřeďovány. 100 μ l supernatantu se pak zředí v 1 ml destilované vody. Absorbance tohoto roztoku se určí proti vodě při 540 nm, rovněž vlnová délka absorpčního maxima hemoglobinu.

Studie se provádí komparativně s negativní kontrolou (fyziologické sérum) a kontrolou pozitivní (čistá voda pro injikovatelné přípravky).

Výsledky

Hodnoty absorbance jednotlivých roztoků po určité době inkubace jsou shrnuty v následující tabulce :

Roztok	TO	10 min	20 min	30 min	40 min	59 min	60 min
Voda	2,23	2,52	2,30	2,37	2,38	2,33	2,36
p.i.p.							
Fyziol. sérum	0,04	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04
Testo- vaný roztok	0,09	0,19	0,27	0,25	0,24	0,24	0,25

Legenda : p.i.p - pro injikovatelné přípravky

Nebyl zjištěn žádný hemolytický účinek.

7.2 - Svalová tolerance

Testovaný roztok

Složka	Množství
Paracetamol	0,160 g
Propylenglykol	0,270 ml
PEG 400	0.360 ml
Dusík qsp	probublávání a plnění
Voda pro injikovatelné přípravky	qsp 1.000 ml

Hodnota pH tohoto roztoku nebyla upravena. Aparentní pH má hodnotu 7,6.

Krasy (Sprague-Dawley) o hmotnosti 260 g až 450 g byly anestetizovány injekcí IP etylkarbamátu (2 ml/kg padesátiprocentního vodného roztoku). Sval extensor digitorum longus byl odebrán ze zadní končetiny, jak pravé tak i levé a byl umístěn do prostředí následujícího složení :

Složka	Množství
Chlorid sodný	6,8 g
Chlorid draselný	0,4 g
Dextróza	1,0 g
Kyselý uhličitán sodný	2,2 g
Fenolová červen (sodná sůl)	0,005 g
Destilovaná voda qsp	1 litr
Kyselina chlorovodíková 1N qsp	pH 7,4

Sval je předběžně fixován na planšetce a přidržován šlachami. Studovaný produkt je injikován v množství 15 μ l Hamiltonovou stříkačkou č. 702 o kapacitě 25 μ l. Následně je pak sval umístěn na mřížku a ponořen do ústojného roztoku při 37° C za probublávání směsí kyslíku a kysličníku uhličitého po celou dobu inkubace. Každých 30 minut jsou svaly vloženy do tubusu obsahujícího nový ústojný roztok při 37° C. Operace se opakuje čtyřikrát. Inkubovaný ústojný roztok je následně analyzován za účelem zjištění kreatin-kinázové aktivity.

Studie je realizována komparativně se :

- samotným neinjikovaným svaem (bílým)
- samotnou jehlou (zavedení jehly bez injikování produktu)
- fyziologickým sérem
- tritonovým roztokem X-100 (pozitivní kontrola)
- roztokem 20
- roztokem 20 + paracetamol 160 mg/ml

Kreatin-kináza se dávkuje automatem Hitachi 704 pomocí optimizovaného reakčního prostředku Enzylin CK NAC 10 (Biomérieux).

Výsledky

Hodnoty kreatin-kinázové aktivity (U/l) v jednotlivých roztocích po různě dlouhé inkubační době jsou uvedeny v následující tabulce :

- 38 -

Testovaný	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.	Celkem
roztok					
Samotný sval	23 ± 6	24 ± 12	15 ± 7	13 ± 5	75
Samotná	35 ± 6	33 ± 10	20 ± 4	18 ± 7	106
jehla					
Fyziol.	30 ± 6	30 ± 12	17 ± 5	23 ± 4	100
sérum					
Triton X-100	12802 ± 2114	1716 ± 978	155 ± 89	289 ± 251	14962
Roztok 20 (vehikulum)	71 ± 24	89 ± 40	39 ± 27	62 ± 39	261
Roztok 20 + paracetamol	141 ± 40	150 ± 60	68 ± 63	34 ± 24	393

Při použití kompozic podle předkládaného vynálezu nelze zjistit žádný jev nekrózy, protože rozdíly mezi výsledky kumulovanými s roztokem sloužícím jako vehikulum nejsou průkazné.

-39-

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu ve vodném rozpouštědle.
2. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 1, kde vodné rozpouštědlo je směs obsahující vodu a polyalkohol nebo alkanol rozpustný ve vodě.
3. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 1 a 2, ve vodné rozpouštědle, vyznačující se tím, že vodné rozpouštědlo je dezoxidováno probubláváním inertním plynem nerozpustným ve vodě.
4. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 3, kde hodnota pH vodného rozpouštědla je upravena ústojným činidlem na hodnotu od 4 do 8.
5. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 4, kde ústojné činidlo zajišťuje hodnotu pH 6,0.
6. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 4, kde se přidává jako přísada alespoň zachycovač volných radikálů.

7. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6, kde zachycovač volných radikálů je zvolen z derivátů kyseliny askorbové, organických sloučenin nesoucích alespoň funkci tiolu a z polyalkoholů.
8. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6 nebo 7, kde deriváty kyseliny askorbové jsou voleny ze skupiny tvořené kyselinou D-askorbovou, L-askorbovou, askorbany alkalického kovu, askorbany kovu alkalických zemin a estery kyseliny askorbové rozpustnými ve vodném prostředí.
9. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6, kde organická sloučenina nesoucí funkci tiolu je zvolena ze sloučenin alifatické nebo cyklické série nesoucí jednu nebo více funkcí tiolu.
10. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6 a 9, kde sloučenina nesoucí funkci tiolu je zvolena ze skupiny tvořené kyselinou tioglykolovou, tiomléčnou, ditiotreitolem, redukovaným glutationem, tiomočovinou, alfa-tioglycerolem, cysteinem, acetylcysteinem a kyselinou merkptoetansulfonovou.
11. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6 a 7, kde polyalkoholem je alifatický polyhydroxylovaný alkohol nesoucí 2 až 10 atomů uhlíku.
12. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 6 a 7, kde polyalkoholem je cukr nebo glucitol,

-41-

lineární nebo cyklický, nesoucí 2 až 10 atomů uhlíku, vybraných z mannitolu, sorbitolu, inositolu a glukózy.

13. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 12, kde polyalkoholem je glycerol.
14. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 13, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného alespoň jedno doplňující, tzv. komplexační činidlo.
15. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, kde koncentrace paracetamolu kolísá od 2 mg do 50 mg/ml u ředěných roztoků.
16. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, kde koncentrace paracetamolu kolísá od 60 mg do 350 mg/ml u roztoků koncentrovaných.
17. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, kde se k přípravku přidává pečlivě propočtené množství izotonizačního činidla.
18. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že se pro aplikaci parenterální cestou roztoky sterilizují teplem.

19. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14 vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného hlavní analgetikum jako ku příkladu analgetikum na bázi morfinu.
20. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 19, kde analgetikum na bázi morfinu je morfinový extrakční, hemi-syntézový nebo syntézový derivát fenylpiperidinu, derivát kyseliny nipekotické, derivát fenylcyklohexanolu nebo derivát fenylazepinu.
21. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 19, kde analgetikum na bázi morfinu je přítomno v dávce kolísající od 0,05 do 5 % paracetamolu jedná-li se o morfin a od 0,2 do 2,5 % jedná-li se o kodein.
22. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného protizánětlivé činidlo fenyloctové-ho typu.
23. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle nároku 22, vyznačující se tím že protizánětlivým činidlem je ketoprofen.
24. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného antiemetikum.

25. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného antiepileptikum.
26. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného kortikosteroid.
27. Nové stálé, tekuté formulace na bázi paracetamolu, podle jednoho z nároků 1 až 14, vyznačující se tím, že obsahují kromě jiného tricyklický antidepresor.