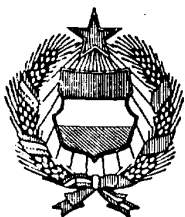


(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

B

(11) 188 446

A bejelentés napja: (22) 83. 04. 07.

(21) 1207/83

A bejelentés elsőbbsége: (33) FI: (32) 82. 04. 07. (31) (821 233)

A közzététel napja: (41) (42) 1984. 02. 28.

Megjelent: (45) 1988. 02. 28.

Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) NSZO₄

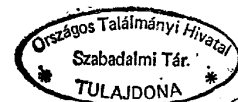
A 61 K 33/26

A 61 K 33/04

A 61 K 9/08

C 07 F 11/00

C 07 F 15/02



Feltalálók: (72)

PEKKANEN Timo Juhani vegyész, Hepokuja, FI

Szabadalmas: (73)

ORION-YHTYMÄ, Helsinki, FI

(54)

ELJÁRÁS VAS- ÉS SZELÉNTARTALMÚ PREPARÁTUM ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás vasat és szelént együttesen tartalmazó, kicsapódástól mentes injekciózásra alkalmas nyomelemoldatok előállítására, amelyek az ezen elemek hiánya okozta rendellenességek gyógykezelésére alkalmazhatók. A fenti nyomelem oldatokat a találmány értelmében úgy állítják elő, hogy szelén-dioxidot vagy nátrium-szelenitet vas(III)-dextránnal vagy vas(III)-polimaltózzal, vagy ezek hidrolizátumával kombinálnak és a por vagy granula formában kapott keveréket a végső adagolási forma kialakítása céljából gyógyászatilag elfogadható oldószerben – előnyösen vízben – oldják, vagy a fenti összetevőket közvetlenül oldják valamely gyógyászatilag elfogadható oldószerben, és az oldatban 10^{-5} – 10^{-1} : 1 szelén/vas súlyarányt biztosítanak.

A találmány szerinti kombinált vas-szelén preparátum meglepő depó- illetve nyújtott hatással rendelkezik in vivo, s a szelén hosszantartó, magas biológiai aktivitása azt eredményezi, hogy egyetlen, az újszülött állatnak adott dózis 3 heti zavartalan fejlődést biztosít.

A találmány tárgya új eljárás vas- és szeléntartalmú nyomelem-oldatok előállítására, amelyek állatok és az ember gyógykezelésére alkalmasak.

A vas és a szelén létfontosságú elemek, hiányuk vészhelyzetet (a vas hiánya) idéz elő, illetve a különböző eredetű stresszhatásokkal való megbirkózás képességét befolyásolja hátrányosan (a szelén hiánya). Fiatal, gyors testi fejlődésben lévő állatok, így borjak, bárányok és különösképpen a malacok szenvedhetnek a vas és a szelén hiányától. Egy kismalac szervezete például mindössze napi 1 mg vashoz jut a koca tejéből, ugyanakkor a szükséglet napi 7–8 mg. Azokon a vidékeken, ahol a talaj különösen kevés szelént tartalmaz, a malacok nem jutnak elegendő mennyiségű szelénhez és különféle degeneratív megbetegedésekre hajlamosak válnak.

Azért, hogy egy fejlődésben levő kis állatnak a vas- és szelénszükségletét a születéstől fogva fedezni lehessen, manapság a malacok 1–3 napos korukban vasat és szelént kapnak, rendszerint intramuszkuláris vagy szubkután injekció formájában. A vasat rendszerint vas-dextrán komplexben – például a 3 026 868 számú NSZK-beli szabadalmi leírásban ismertetett készítmény formájában –, 100–200 mg vasat tartalmazó dózisban, a szelént nátrium-szelenit alakjában, mintegy 0,06 mg Se⁴⁺/testsúlykg dózisban alkalmazzák. Miután a szelén biológiai felezési ideje rövid, gyorsan kiürül a szervezetből, a szervezetbe juttatott főleg pedig nem raktározódik el számottevő mértékben, ezért egyetlen szelén-injekció csak rövid időre szóló védelmet nyújt.

Mivel nagyszámú malacnak kell a vas- és a szelén-injekciót beadni, ezért sok fáradtságot lehetne megtakarítani, ha ezeket a nyomelemeket egyetlen injekciós oldatban kombinálni lehetne. Az injekciók okozta sérüléseket és a fertőzés veszélyét is csökkenteni lehet azáltal, ha csak egy injekciót adunk kettő helyett.

A szelén és a vas szilárd állapotban való kombinálása nem okoz problémát. A 4 029 820 számú USA-beli szabadalmi leírásból ismert egy vasat és szelént tartalmazó speciális szilárd készítmény, és a fenti két nyomelem számos kereskedelmi forgalomban lévő vitamintablettában is együtt található.

A szelént és a vasat azonban eddig még nem próbálták meg egyazon oldatban kombinálni. Ismert volt ugyanis, hogy a szelén a vassal oldhatatlan vegyületeket képez. Ezt a tényt például a szelén analitikájában is hasznosítják. Sőt, ismeretesek olyan, a lakosságnak szóló figyelmeztetések is, amelyek arra hívják fel a figyelmet, hogy szelénsók vagy szelénsókat tartalmazó oldatoknak az ivóvízellátó rendszerbe való juttatása a vas jelenléte miatt csapadékkiválást, lerakódásokat idéz elő.

A 889 680 számú belga szabadalmi leírásban ismertetett megoldás szerint az állatok nyomelemigényét az ivóvízbe kevert, szabályozott nyomelem-szintet biztosító készítményekkel kívánták elérni. A fenti készítmények rezet, kobaltot vagy szelént tartalmaznak. Mivel azonban az ivóvizet az állatok ad libitum fogyasztják, az egyes állatok nyomelem-felvétele nem ellenőrizhető. Ellenőrzött adagolásra megfelelőbb forma az injekció.

Mármint azt találtuk, hogy ha egy oldható sze-

lénvegyületet egy injekciós oldatban egy nagy molekulású vas-poliszaccharid komplexszel hozunk össze, akkor a szelén – a várakozással szemben – nem válik ki csapadék formájában.

Azt is megfigyeltük, hogy ha ezt az újfajta injekciós készítményt adjuk az állatoknak, akkor az egy többlet szelénforrást biztosít, mert az így bevitt szelén, meglepő módon, képes elraktározódni az állati szervezetben. Az elraktározódás mechanizmusa még nem tisztázott, de valószínű, hogy a szelén vas – szelén komplexek alakjában halmozódik fel.

Elvben bármely élettanilag megfelelő, asszimilálható, oldható szelénvegyület alkalmazható a találmány szerinti készítményben. A nátrium-szelenit és a szelén-dioxid különösképpen megfelelő.

A legalkalmasabb vas-poliszaccharid komplex a vasdextrán és a vas-polimáltóz a találmány szerinti készítményben.

Az oldat vas- és szeléntartalmát tág határok között változtathatjuk attól függően, hogy a hiányállapot-tünetek elsősorban a vas vagy a szelén hiányára mutatnak-e. Így a szelén/vas súlyarány 10^{-5} -től 10^{-1} -ig változhat; ezen belül előnyös, ha 10^{-3} és 10^{-2} között van.

A találmány szerinti injekciós oldatokat egyszerűen úgy készítjük, hogy a vas-poliszaccharid (vagy a poliszaccharid megfelelő hidrolizátuma) vizes oldatában oldjuk a szelénvegyületet és az oldatot vízzel szükség szerint hígítjuk. Egy másik eljárás szerint az elporított kiindulási anyagokat összekeverjük, és csak később, felhasználás előtt adjuk hozzá a vizet (vagy egyéb alkalmas oldószert), illetve az anyagokból pasztát készítünk. Kivánt esetben más anyagokat, így például E-vitamint is hozzákeverhetünk a készítményhez.

A találmány szerinti, új típusú, nátrium-szelenitet és vas-dextrán komplexet tartalmazó készítményt három 15–25 kg súlyú, szelénhiányban szenvedő malacnak adtuk be im. injekció formájában. Másik három szelénhiányban szenvedő malacnak nátrium-szelenitet adtunk azonos dózisban. Meghatároztuk a vérérum szelénkoncentrációját és glutation-peroxidáz aktivitását, amelyek a szelén bioaktivitása mutatóinak tekinthetők a kísérleti állatok szervezetében. Az eredmények azt mutatták, hogy mind a szelénkoncentráció, mind a glutation-peroxidáz (gSH-Px) aktivitása szignifikánsan nagyobb volt a találmány szerinti készítményt kapott malacok szervezetében, mint a csak szelént kapott kontrollállatokéban (ld. 1. táblázat). Az összes, a kísérletben résztvevő malac étrendje azonos volt a kísérlet egész időtartama alatt.

Az 1, 2 és 3 számú kísérleti állat 0,06 mg/test-súlykg szelént kapott intramuszkuláris nátrium-szelenit injekció alakjában.

A 4, 5 és 6 számú kísérleti állat 0,06 mg/test-súlykg szelént kapott nátrium-szelenit formájában és 200 mg/dózis vasat tartalmazó vas-dextrán komplexszel kombinálva, im. injekcióban.

Amint az 1. táblázatból látható, a vas-szelén prepatátum egy világosan észrevehető növekedést váltott ki a szelén bioaktivitása terén. Nyolc nappal a készítmény beadása után a csak szelént kapott állatokban a bioaktivitás átlagos értéke 926 nem-

1. Táblázat

A vérérszérüm szelénkoncentrációja és glutation-peroxidáz (gSH-Px) enzimaktivitása vas-szelén kísérleti preparátummal, ill. csak szelénrel kezelt kísérleti állatokban

Kísérleti állat száma	Induló érték (a kezelés napján = 0. nap)		Kezelés utáni 8. napon		Kezelés utáni 15. napon	
	gSH-Px IU/l*	Se ng/ml	gSH-Px IU/l	Se ng/ml	gSH-Px IU/l	Se ng/ml
1	373	28	1065	53	632	40
2	298	19	796	47	437	32
3	325	23	926	47	484	34
Átlag	332	23	926	49	518	35
4	374	20	1288	65	804	46
5	279	18	1365	63	752	49
6	429	26	1643	90	706	51
Átlag	361	21	1432	73	754	49

* nemzetközi egység/liter

zetközi egység/liter volt. Ugyanakkor a találmány szerinti vas-szelén kombinált készítményt kapott állatoknál az érték 1432 nemzetközi egység/liter volt. Tizenöt nappal a készítmény beadása után a szobanforgó érték 518 nemzetközi egység/liter, illetve 754 nemzetközi egység/liter volt. A szérüm szelénkoncentrációja is meglehetősen magas maradt. A vas-szelén preparátumot kapott állatok vérérszérümának szelénkoncentráció-szintje 15 nap után is változatlan volt, ezzel szemben a csak szelént kapott állatoké csupán 8 napig maradt magas.

Hat újszülött, egyenként mintegy 1 kg súlyú kismalac 2 ml-es dózisban kapta az új vas-szelén preparátumot, intramuszkulárisan. A készítmény ml-enként 100 mg ferriiont tartalmazott vas (III)-dextrán komplex alakjában, valamint 0,15 mg Se^{4+} -t nátrium-selenit alakjában. A várakozással ellen-

létben azt találtuk, hogy a szelén és a glutation-peroxidáz szintje a szérumban még négy héttel a beadás után is magas volt (2. táblázat). Ez annak ellenére volt így, hogy a malacokat egy alacsony szeléntartalmú étrendben tartott koca tejével tápláltuk ebben az időszakban. Öt hasonló, ugyanazon étrenden tartott kismalac képezte a kontrollcsoportot. Az ellenőrző csoport állatai egyenként 200 mg F^{3+} -t tartalmazó vas(III)-dextránt kaptak, im., ugyanabban az időben, amikor a kísérleti csoport állatait injekciótuk. Négy héttel később 55,4 nanogramm/ml átlagos szelénkoncentrációt és 710,8 nemzetközi egység/liter átlag glutation-peroxidáz aktivitást mértünk a vérérszérumban. Az átlagértékek eltérése a kísérleti csoport és az ellenőrző csoport között statisztikailag szignifikáns volt – a glutation-peroxidáz aktivitás tekintetében 99%-os

2. táblázat

Szérüm glutation-peroxidáz aktivitásának és szelén-koncentrációjának csökkenése a találmány szerinti vas-szelén preparátum adását követően

Kísérleti állat száma	Induló értékek (a kezelés napján)		1 hét múlva		2 hét múlva		4 hét múlva	
	gSH-Px IU/l	Se ng/ml	gSH-Px IU/l	Se ng/ml	gSH-Px IU/l	Se ng/ml	gSH-Px IU/l	Se ng/ml
7	467	53,6	520	68,9	648	70,2	1074	97,1
8	n.d.	n.d.	480	88,5	868	67,4	1010	69,5
9	402	76,4	601	105,2	953	86,3	1006	70,1
10	357	44,5	503	77,5	555	57,8	822	54,5
11	n.d.	n.d.	486	63,4	799	73,6	906	69,5
12	414	44,8	562	89,0	649	76,9	973	60,4
Átlag	410	54,8	525,3	98,5	745,3	72,0	965,2	70,2

0,3 mg Se/testsúlykg + 200 mg Fe^{3+}

n.d. = nem határoztuk meg

megbízhatósági szinten, a szelén vonatkozásában pedig 95%-os megbízhatósági szinten (Wilcoxon-Mann-Whitney-féle rangszámösszeg-próba). A találmány szerinti új készítménnyel kezelt malacok vérszámának szelén- és glutation-peroxidáz-szintjét még 4 héttel a kezelés után is elegendően magasnak mondhatjuk, ugyanakkor a kontrollállatoknál mért megfelelő értékek hiányállapot kialakulását jelzik. Meg kell jegyezni, hogy a kísérletben alkalmazott 0,3 mg/kg-os szeléndózis ötször nagyobb a normális dózishoz, és ismeretes, hogy a szelén gyorsan ürül ki a szervezetből.

Egy másik kísérletsorozatban két kocát alacsony szeléntartalmú étrenden tartottunk vemhességük utolsó négy hetében és a szoptatás ideje alatt. A 25 éves született kismalacot háromnapos korukban két csoportra (12 db + 13 db) osztottuk úgy, hogy mindkét csoportba jutottak malacok mindkét kocától. Vérmintákat vettünk mindegyik malactól, hogy meghatározzuk a szelén és a glutation-peroxidáz enzim szintjét a vérben, és vörteszámmlálást végeztünk. A kísérleti csoport (13 db malac) 200 mg Fe^{3+} -t kapott vas-dextrán komplex alakjában olyan 2 ml-es szubkután injekcióban, amelybe előzőleg még annyi nátrium-szelenitet is adagoltunk, hogy a Se^{4+} koncentrációja 0,15 mg/ml legyen. Az ellenőrző csoport (12 állat) 200 mg Fe^{3+} -t kapott vas-dextrán komplex alakjában, szelén hozzáadása nélkül. Az ellenőrző csoportból az egyik kismalac később elpusztult. Nyolc nap után valamennyi malactól vérmintát vettünk. Egy elektronikus vörteszámmláló alkalmazásával megállapítottuk, hogy az eritrocita-szám átlagos emelkedése a kísérleti csoportban $1,76 \pm 0,44 \times 10^{12}/\text{l}$, a kontrollcsoportban viszont $1,41 \pm 0,30 \times 10^{12}/\text{l}$ volt. A különbség statisztikailag szignifikáns volt – 95%-os megbízhatósági szinten – a nemparaméteres Wilcoxon-Mann-Whitney-féle rangszámösszeg-próba szerint. A szelénről korábban nem mutatták ki, hogy serkentené az eritrociták szintézisét. Ennek folytán a találmány kidolgozása során tett fenti megállapítás igen jelentős felismerésnek tekinthető, amelynek nagy szerepe lesz mind a humán, mind az állatgyógyászat vonalán. Valószínűsíthető, hogy a vassal kombinált szelén alkalmazása idézi elő az eritrociták számának jelentős növekedését.

Azt is megállapítottuk, hogy a malacoknak háromnapos korukban adott vas + szelén kombinált injekció (200 mg Fe^{3+} + 0,3 mg Se^{4+}) (állat) a korábbi megfigyelésekkel összhangban képes a szelén szelénkoncentrációját és glutation-peroxidáz szintjét, valamint az állat testi fejlődését, súlygyarapodását legalább 3 hétig normális szinten tartani.

Ugyanakkor az előző csoport állatai (200 mg Fe^{3+} /állat) eddigre már súlyos szelénhiány-tüneteket mutatnak, amit a súlygyarapodás visszamaradása jelez. A szelén valószínűleg egy vas-szelén komplex alakjában raktározódik, ami magyarázatot ad arra, hogy nem várt módon miért elégséges egyetlen, újszülött korban adott szelénadag min-
tegy 8–10 kg-os testsúly eléréseig.

A kísérleti eredmények azt mutatják, hogy a találmány szerinti vas-szelén preparátum megfelelő depó- illetve nyújtott hatással rendelkezik in vivo,

s hogy meglepően magas szintű a biológiai aktivitása is.

Az alábbi példák segítségével bemutatjuk a találmány szerinti új típusú készítmény előállítását.

1. példa

Összetétel:

Nátrium-szelenit; Se^{4+} -tartalom:	0,150 mg
Vas-dextrán hidrolizátum; Fe^{3+} -tartalom:	100,0 mg
Aqua sterilisata	ad 1,0 ml

150 mg szelénrel ekvivalens nátrium-szelenitet feloldunk 5 ml steril, desztillált vízben és az oldatot a vas-dextrán hidrolizátumának oldatával elegyítjük. Az így kapott oldatot azután steril vízzel 1 liter térfogatra töltjük fel, membránszűrőn vagy üveg-szűrőn átbocsátva a lebegő szilárd részecskéket eltávolítjuk.

A szűrletet üvegampullákba vagy forró levegővel sterilizált injekciós ampullákba töltjük. A használatra kész csomagolású injekciós oldatot autoklavozással sterilizáljuk.

2. példa

Összetétel:

Nátrium-szelenit; Se^{4+} -tartalom:	0,150 mg
Vas(III)-polimaltóz; Fe^{3+} -tartalom:	100,0 mg
Aqua sterilisata	ad 1,0 ml

100 mg ferriiont tartalmazó vas(III)-hidroxidipolimaltóz komplexet 500 ml steril vízben feloldunk és a nátrium-szelenitet hozzáadjuk. Az oldatot steril vízzel 1 literre feltöltjük, szűrjük, edényekbe töltjük és a letöltött kész terméket sterilizáljuk.

3. példa

Összetétel:

Szelén-dioxid; Se^{4+} -tartalom:	0,1 mg
Vas-dextrán hidrolizátum; Fe^{3+} -tartalom:	100,0 mg
Aqua sterilisata	ad 1,0 ml

Az injekciós oldatot az 1. példa szerinti eljárással készítjük.

4. példa

Összetétel:

Nátrium-szelenit; Se^{4+} -tartalom:	0,2 mg
Vas-polimaltóz; Fe^{3+} -tartalom:	100,0 mg

A fenti összetétellel homogén porkerevéket állítunk elő önmagában ismert eljárások segítségével. A porkeveréket oldószer(ek) hozzáadásával granulálhatjuk.

5. példa

Nátrium-szelenit; Se^{4+} -tartalom:	0,06 mg
Vas-dextrán hidrolizátum;	
Fe^{3+} -tartalom:	100,0 mg
Tisztított víz, szükséglet szerint Polietilénlikol.	

A szelén- és a vasvegyületet egy kevés vízben feloldjuk. A vizes oldathoz hatékony keverés közben polietilénlikolt adunk, amíg az elegyből paszta nem képződik.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás kombinált vas- és szeléntartalmú – ezen elemek hiánya okozta rendellenességek gyógy-
kezelésére alkalmas – kicsapódástól mentes nyom-
elem-oldatok előállítására, *azzal jellemezve*, hogy
szelén-dioxidot vagy nátrium-szelenitet vas(III)-
dextránal vagy vas(III)-polimaltózzal, vagy ezek
hidrolizátumával keverünk és a por vagy granula
formában kapott keveréket a végső adagolási for-
10
15

ma kialakítása céljából gyógyászatilag elfogadható
oldószerben – előnyösen vízben – oldjuk, vagy a
fenti összetevőket közvetlenül oldjuk valamely gyó-
gyászatilag elfogadható oldószerben, és az oldat-
ban 10^{-5} – 10^{-1} : 1 szelén/vas súlyarányt, továbbá
legfeljebb 4 mg/l szelén-koncentrációt, illetve leg-
feljebb 300 mg/l vas-koncentrációt biztosítunk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatási
módja, *azzal jellemezve*, hogy szelénvegyületként
nátrium-szelenitet használunk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogantatási
módja, *azzal jellemezve*, hogy vas komplexként vas-
dextrán komplexet használunk.

4. Az 1–3. igénypontok szerinti eljárás fogantatási
módja, *azzal jellemezve*, hogy 10^{-3} – 10^{-2} : 1
szelén/vas súlyarányt biztosítunk.

Ábra nélkül
