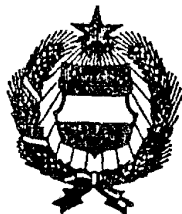


(19) HU  
MAGYAR  
NÉPKÖZTARSASÁG



ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

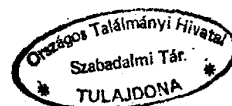
B

(11)  
196 219

Nemzetközi  
osztályjelzet:  
(51) NSZO,  
C 07 H 15/22  
A 61 K 31/70

(22) A bejelentés napja: 86. 12. 12. (21) 5203/86  
A bejelentés elsőbbsége:  
(33) DE  
(32) 85. 12. 13.  
(31) (P 35 43 999.8)

(41) (42) Közzététel napja: 87. 09. 28.  
(45) A leírás megjelent: 89. 12. 12.



Feltaláló(k): (72)  
dr. RAUENBUSCH Erich, Wuppertal, DE

Szabadalmas: (73)  
BAYER AG., Leverkusen, DE

(54)

**ELJÁRÁS NAGYTISZTASÁGÚ AKARBÓZ, VALAMINT HATÓANYAGKÉNT EZT TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás akarbóz előállítására, amely víz mellett 10 tömeg%-nál kevesebb cukor-szerű komponenst tartalmaz. A találmány szerinti eljárás értelmében előtisztított akarbózt 1–20 tömeg%-os oldatban, 4–7 pH-értékű oldatban egy olyan oszlopra visznek fel, amely karboxilcsoport

okat tartalmazó, dextrán-, agaróz- vagy cellulóza-lapú vagy ezeknek poliamid-származékát tartalmazó töltetet tartalmaz. Az oszlopot kizárólag gázmentesített desztillált vízzel eluálják, és adott esetben az akarbózt az eluátumból szokásos módon izolálják.



Az elválasztási ábrákon az órában mért idő függvényében az elúátum törésmutatóját, illetve vezetőképességét (szaggatott vonal) ábrázoltuk. Ezen kívül a hőmérsékletértékeket is jelöltük.

A végeredményben az akarbóztartalmat folyadék-kromatográfiás módszerrel határoztuk meg (HPLC-módszer), és a vízmentes anyagra vonatkoztattuk. A módszert a következőképpen hajtottuk végre:

Nagynyomású folyadék-kromatográfia termosztatizált oszloppal,  
nemesacélból készült fémoszlop

hossz: 25 cm

belső átmérő: 4 mm

töltet: Aminophase 5  $\mu$ m

(például LiChrosorb NH<sub>2</sub>, E. Merck, vagy Hypersil APS, Shandon).

Reagensok:

1. Acetonitril (pl. LiChrosolv, E. Merck)
2. Kálium-dihidrogén-foszfát az analízishez
3. Dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát az analízishez

Próbaoldat:

Kb. 200 mg anyag, mérőlombikba pontosan mérve és vízzel 10,0 ml-re feltöltve. 20 mg/ml.

Összehasonlító oldat:

1 ampulla standard anyag a standardra megadott térfogatra vízzel oldva.

Eluálószer:

Acetonitril-foszfát-puffer (71+29, térfogat), Foszfát-puffer: 600 mg kálium-dihidrogén-foszfát és 350 mg dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát vízzel 1000 ml-re oldva. Az oldat 0,8  $\mu$ m-es AAWP típusú millipor-szűrőn szűrve.

Átfolyási arány: 2,2 ml/perc.

Az oszlop hőmérséklete: 35 °C.

Detektálás: UV, 210 nm.

Próba mennyisége: 10  $\mu$ l, 0,2 mg 10  $\mu$ l-ben.

A kiíró teljes kilengése: kb. 0,25 AUFS (absorbance units full scale).

Az akarbóztartalom számítása:

$$G = \frac{P_p \times C \times 100\,000}{P_v \times W_p \times (100 - b)}$$

G = akarbóztartalom %-ban, a vízmentes anyagra számítva

P<sub>p</sub> = az akarbózfolt területe a próbaoldatból

P<sub>v</sub> = az akarbózfolt területe az összehasonlító oldatból (standard)

W<sub>p</sub> = a bemért próba mennyisége mg-ban

C = az összehasonlító oldat koncentrációja, mg akarbózt/ml

b = a próba víztartalma %-ban.

Az akarbóz inhibíciós hatását szacharáz inhibíciós teszttel határoztuk meg, és szacharáz inhibíciós egységekben (SIE) adtuk meg. A teszt leírása a következő helyen található: L. Müller, B. Junge és munkatársai, Enzyme Inhibitors, U. Brodbeck ed., Verlag Chemie, 1980, 109.

A találmány tárgya továbbá eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek nemtoxikus, inert farmakológiailag alkalmas hordozóanyagok mellett a találmány szerinti hatóanyagot tartalmaz-

A találmány szerinti eljárással előállított gyógyszerkészítmények különböző dózisegységekben állíthatók elő. Így például tabletták, drázsé, kapszula, pilula, kúp vagy ampulla formájában, amelynek hatóanyagtartalma az egyszeri dózisnak törtrésze vagy annak többszöröse lehet. A dózisegységek tehát például 1, 2, 3 vagy 4 egységdózist vagy 1/2, 1/3 vagy 1/4 egységdózist tartalmazhatnak. Egy egységdózis előnyösen annyi hatóanyagot tartalmaz, amelyet egyszeri alkalmazáskor adagolunk, és ez általában a napi adag egészének felének, harmadának vagy negyedének felel meg.

Nemtoxikus, inert farmakológiailag alkalmas hordozóanyagok a szilárd, félszilárd vagy folyékony hígítószerkezet, töltőanyagok és formulázási segédanyagok.

Előnyös farmakológiai kiserelési formák a tabletták, drázsék, kapszulák, pilulák, granulátumok, kúpok, oldatok, szuszpenziók és emulziók, paszták, kenőcsök, zselék, krémek, lemosóoldatok, púderekek és sprayk.

A tabletták, drázsék, kapszulák, pilulák és granulátumok a hatóanyagot vagy hatóanyagokat a szokásos hordozóanyagok mellett tartalmazhatják, így (a) tartalmaznak töltő- és hígítóanyagot, például keményítőt, tejcukrot, nádcukrot, glükózt, mannitot vagy kavasavat, (b) kötőanyagot, például karboxi-metil-cellulózt, alginátot, zselatint, polivinil-pirrolidont, (c) nedvességtartó anyagot, például glicerint, (d) szétesést segítő anyagot, például agar-agar, kalcium-karbonátot és nátrium-bikarbonátot, (e) oldódást gátló anyagot, például paraffint és (f) reszorpciógyorsító anyagot, például kvaterner ammónium-származékokat, (g) nedvesítőszerkezetet, például cetilalkoholt, glicerin-monosztearátot, (h) adszorbalószert, például kaolint és bentonitot és (i) síkosítóanyagot, például talkumot, kalcium- és magnézium-sztearátot és szilárd polietilén-glikolokat vagy az (a) – (i) pontok alatt felsorolt anyagok keverékét.

A tabletták, drázsék, kapszulák, pilulák és granulátumok a szokásos, adott esetben opakizálószert tartalmazó bevonóanyagokkal láthatók el, és lehet olyan az összetételük, hogy a hatóanyag csak előnyösen az emésztőtraktus egy bizonyos részében, adott esetben lassítva szabadul fel, ilyenkor beágyazószerként például polimeranyagokat és viaszokat használhatunk.

A hatóanyag vagy hatóanyagok adott esetben egy vagy több fenti hordozóanyaggal együtt mikrokapszulázott formában is kiserelhető.

A kúpok a hatóanyag mellett a szokásos vízdoldható- vagy vízben nem oldódó hordozóanyagokat tartalmazhatják, például polietilén-glikolt, zsírokat, például kakaóvaját és hosszúszenlancú észtereket (például 14 szénatomos alkoholok 16 szénatomos zsírsavakkal alkotott észtereit) vagy ezeknek az anyagoknak az elegyét.

A kenőcsök, paszták, krémek és zselék a hatóanyag mellett a szokásos hordozóanyagokat tartalmazhatják, így például állati és növényi zsírokat, viaszokat, paraffint, keményítőt, tragantot, cellulóz-származékokat, polietilén-glikolokat, szilikonokat, bentonitot, kavasavat, talkumot és cink-oxidot vagy ezeknek az anyagoknak az elegyét.

A púderekek és sprayk a hatóanyag mellett a szokásos hordozóanyagokat tartalmazhatják, így

például tejcukrot, talkumot, kovasavat, alumínium-hidroxidot, kalcium-szilikátot és poliamidport vagy ezeknek az anyagoknak az elegyét. A sprayk emellett a szokásos hajtóanyagot, például klór-fluor-szénhidrogéneket tartalmazhatnak.

Az oldatok és emulziók a hatóanyag mellett a szokásos hordozóanyagokat tartalmazhatják, így például oldószerket, oldódást segítő anyagokat és emulgátorokat, például vizet, etil-alkoholt, izopropil-alkoholt, etil-karbonátot, etil-acetátot, benzil-alkoholt, benzil-benzoátot, propilén-glikolt, 1,3-butilén-glikolt, dimetil-formamidot, olajokot, különösen gyapotmagolajat, földimogyoróolajat, kukoricacsíraolajat, olívaolajat, ricinusolajat és szesámolajat, glicerint, glicerin-formált, tetrahidrofurfuril-alkoholt, polietilén-glikolt és sorbitán zsírsavésztereit, vagy ezeknek az anyagoknak az elegyét.

Parenterális alkalmazáshoz ezeket az oldatokat és emulziókat steril és izotóniás formában lehet előállítani.

A szuszpenziók a hatóanyag mellett a szokásos hordozóanyagokat tartalmazhatják, így például folyékony hígítószerket, például vizet, etilalkoholt, propilén-glikolt, szuszpendálószerket, például etoxilezett izosztaril-alkoholokat, polioxi-etilén-sorbitot és sorbitánésztereket, mikrokristályos cellulózt, alumínium-metahidroxidot, bentonitot, agar-agart és tragantot vagy ezeknek az anyagoknak az elegyét.

Az említett készítmények tartalmazhatnak még színezőanyagokat, konzerválóanyagokat, valamint iz- és zamatjavító adalékanyagokat, például fodormentaolajat és eukaliptuszolajat, valamint édesítőszeret, például szacharint.

A terápiásan hatásos vegyületeknek az előbb említett farmakológiai készítményekben előnyösen 0,1 és 99,5 tömeg% közötti koncentrációban, előnyösen 0,5–95 tömeg% koncentrációban kell jelen lennie. A felsorolt farmakológiai készítmények a találmány szerinti eljárással előállított hatóanyag mellett más farmakológiai hatóanyagokat is tartalmazhatnak.

Az említett farmakológiai készítményeket a szokásos módszerekkel állíthatjuk elő, például a hatóanyagok és a hordozó- és egyéb segédanyagok összekeverésével.

A találmány szerinti eljárással előállított farmakológiai készítmények a humán- és állatgyógyászatban betegségek megelőzésére és/vagy gyógyítására alkalmazhatók. Alkalmazhatók lokálisan, orálisan, parenterálisan, intraperitoneálisan és/vagy rektálisan, előnyösen parenterálisan, különösen előnyösen intravénásan.

A találmány szerinti eljárással előállított hatóanyagokat a humán- és állatgyógyászatban naponta testsúlykilogrammonként 1–40, előnyösen 2–8 mg mennyiségben alkalmazzuk, adott esetben több adagban.

A találmány szerinti eljárással előállított hatóanyagokat egyszeri adagban testsúlykilogrammonként előnyösen 0,1–4, különösen előnyösen 0,2–2 mg mennyiségben adagoljuk. Szükség lehet azonban az említett adagolástól eltérni, éspedig a kezelendő fajától és testsúlyától, a megbetegedés fajtájától és súlyosságától, a gyógyszerkészítmény

alkalmazásának és elkészítési módjának fajtájától, valamint az adagolás idejétől és időközétől függően. Így egyes esetekben megfelelő lehet az említettől kevesebb hatóanyagot alkalmazni, míg más esetekben az említett hatóanyagmennyiségnél többet kell alkalmazni. Az optimális adagolás és adagolási mód meghatározása bármely szakember számára szaktudása alapján egyszerű. A találmány szerinti eljárást a következő példákkal szemléltetjük a korlátozás szándéka nélkül.

### 1. példa

Egy 2,6 cm átmérőjű és 40 cm hosszú kromatografáló oszlopot (Pharmacia K 26/40) megtöltünk CM-Sephadex<sup>®</sup> C 25 töltettel. A töltetet előzőleg 0,2 mólos nátrium-acetát-pufferral 4,7 pH-nál kiegyenlítjük. Feltöltés után az oszlopot desztillált, gázmentesített vízzel addig mossuk, míg a vezetőképesség 0,1 mS/cm értékre csökken. Az oszlopban a töltet magassága 34 cm. Tesztanyagként 9,2 g előtisztított akarbózt használunk, amely víz mellett még sókat és egyéb szennyezéseket tartalmaz. Az akarbózt kb. 40 ml vízben feloldjuk, a pH-t sósav adagolásával 4,7-re állítjuk be és az oldatot 50 ml-re feltöltjük. Az inhibítortartalom 446 550 SIE, amely megfelel 5,75 g tiszta akarbóznak. Az anyagot 100 ml/óra (18,8 cm/óra) átfolyási sebességgel felvisszük az oszlopra, és 26°C-on desztillált vízzel utánamossuk és eluáljuk. Az elválasztás lefolyását az 1a) ábra mutatja. A főfrakciókat egyesítjük, és így 5,75 g 399 300 SIE értéknek megfelelő kitermelést kapunk, amely a bevitt inhibítornak 89%-a. A szárazanyagban a specifikus aktivitás 72 SIE/mg. A HPLC-módszer 93% tartalmat ad.

Az oszlop regenerálását 800 ml 0,2 mólos nátrium-acetát-pufferrel végezzük 4,7 pH-nál, majd végül 600 ml desztillált, gázmentesített vízzel át-mossuk.

### 2–5. példa

Az 1. példa szerinti módon járunk el, az oszlop hőmérsékletét az eluálás alatt azonban változtatjuk. A felvitel megkezdése után 3 órával az oszlop-fűtés termosztátját bekapcsoljuk, így az a kívánt értéket 3–12 perc múlva éri el. A főfrakció térfogatát az 1. táblázatban megadjuk, és az 5. példa szerinti eljárás lefutását, amikor az eluálási hőmérséklet 70°C, az 1b) ábrán mutatjuk be.

### 1. táblázat

Akarbóz-kromatográfia CM-Sephadex<sup>®</sup> C 25 tölteten

Az eluálási térfogat hőmérséklet-függése

Példa	Eluálási hőmérséklete °C	Főfrakció térfogata ml	Kitermelés		HPLC szerinti tartalom %
			g	%	
1.	26	1 163	5,87	89	95
2.	40	840	6,25	100	92

Példa	Eluálás hő- mérséklete °C	Főfrakció térfogata ml	Kitermelés		HPLC- szerinti tartalom
			g	%	%
3.	50	570	6,04	91	90
4.	60	460	5,92	86	92
5.	70	380	6,62	99	94

### 6. példa

Egy kromatografáló oszlopot (Pharmacia K 26/70) az 1. példa szerinti módon CM-Sephadex<sup>®</sup> C 25 töltettel töltünk meg, a kiegyenlítést azonban 4,3 pH-nál végezzük. A töltet magassága 47 cm. Tesztanyagként az 1. példában alkalmazott akarbózt használjuk, 200 ml vízben 579 000 SIE mennyiséget viszünk fel. Az átfolyási sebességet 117 ml/óra (22 cm/óra) értéken tartjuk. Az eluálást vízzel végezzük, az 1. példához hasonlóan először a sőtartalmú frakciók eluálnak, végül az akarbóz. A sőtartalmú frakciók vége és az akarbóz eluátum kezdete közötti távolság 162 ml. Az akarbóz eluációját az oszlop 45 °C-ra történő melegítésével meggyorsítjuk. Az akarbózfrakció térfogat 1048 ml, kitermelés 577 000 SIE, amely a felvitt mennyiségnek 100%-a.

### 7. példa

A 6. példa szerinti módon egy kromatografáló oszlopot CM-Sephadex<sup>®</sup> C 25 töltettel töltünk meg, a kiegyenlítést azonban 4,9 pH-nál végezzük. 200 ml 579 000 SIE tesztoldatot viszünk fel, és az anyagot vízzel eluáljuk. A sőtartalmú frakciók és az akarbózfrakciók kezdete előtt mindössze 23 ml a különbség. A főfrakció térfogata 707 ml, az eluálás szintén 45 °C-on történik. A kitermelés 577 000 SIE, amely a felvitt mennyiségnek 100%-a.

### 8. példa

Egy kromatografáló oszlopot (Pharmacia K 26/40) CM-Sephadex<sup>®</sup> CI 6B fast flow töltettel töltünk meg, 4,5 pH-nál 0,2 mólos nátrium-acetát-oldattal kiegyenlítjük, és vízzel kimossuk. 40,5 ml előtisztított akarbózt, amelynek gátlóhatása 247 000 SIE viszünk fel az oszlopra. Az átfolyási sebességet 100 ml/óra (18,8 cm/óra) értéken tartjuk. Az eluálást gázmentesített desztillált vízzel végezzük, az oszlopot az akarbóz eluálása kezdetekor 45 °C-ra melegítjük. A só- és akarbózfrakciók közötti távolság 38 ml, a főfrakció térfogata 600 ml. Akarbóz kitermelése 247 000 SIE, amely a felvitt mennyiség 100%-a. HPLC-módszer szerint a tartalom 98%.

### 9. példa

Egy 8. példa szerinti kromatografáló oszlopot Carboxymethylcellulose CM 52<sup>®</sup> (Whatman) töltettel töltünk meg, 0,2 mólos nátrium-acetát-oldattal, 4,5 pH-nál kiegyenlítjük és vízzel kimossuk. A töltet magassága 36 cm. 62 ml előtisztított akarbózt, amelynek gátló hatása 394 000 SIE a 8. példa szerinti módon felviszünk és eluálunk. Az akarbózfrakció közvetlenül követi a sőtartalmú frakciót. Az akarbózfrakció térfogata 850 ml, kitermelés 322 000 SIE, amely a felvitt mennyiség 82%-a. HPLC-módszer szerint a tartalom 90%.

### 10. példa

Egy 8. példa szerinti kromatografáló oszlopot Matrex-Cellufine CM<sup>®</sup> (Amicon) töltettel töltünk meg, 0,2 mólos nátrium-acetát-oldattal 4,5 pH-nál kiegyenlítjük, és vízzel kimossuk. A töltet magassága 37 cm. 62 ml előtisztított akarbóz-oldatot, amelynek gátló hatása 394 000 SIE viszünk fel, és a 8. példa szerint eluálunk. Az akarbózfrakció a sőtartalmú frakció 23 ml távolságban követi. Az akarbózfrakció térfogata 960 ml, kitermelés 350 000 SIE, amely a felvitt mennyiségnek 89%-a. HPLC-módszer szerint a tartalom 98%.

### Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás akarbóz előállítására, amely víz mellett 10 tömeg%-nál kevesebb cukorszerű komponenst tartalmaz, *azzal jellemezve*, hogy előtisztított akarbózt 1–20 tömeg%-os oldatban, 4–7 pH-értéknél egy oszlopra viszünk fel, amely töltésként karboxilcsoportokat tartalmazó, dextrán-, agaróz- vagy cellulózalapú vagy ezeknek poliamid-származékát tartalmazó töltetet tartalmaz, az oszlopot kizárólag gázmentesített desztillált vízzel eluáljuk, és adott esetben az akarbózt az eluátumból szokásos módon izoláljuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az oszlop töltettérfogatának megfelelő mennyiségű előtisztított akarbóz-oldatot viszünk fel.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az oszlopra az oszloptérfogat 60%-ának megfelelő térfogatú előtisztított akarbóz-oldatot viszünk fel.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az előtisztított akarbóz-oldat pH-ja 3,5–6,0 előnyösen 4,0–5,5.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az előtisztított akarbóz-oldatot szobahőmérsékleten, előnyösen 4–25°C hőmérsékleten visziünk fel, és a sók és színeződő komponensek eluálása után az oszlopot 25–90°C-ra, előnyösen 40–70°C-ra felmelegítjük.

6. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az 1. igénypont szerinti eljárással kapott akarbózt a gyógyszerkészítésben szokásos hordozó-, vivő- és egyéb segédanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

---

1 db ábra

---

