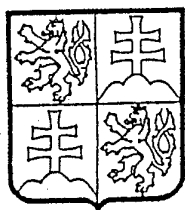


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu :

276 805

(21) Číslo přihlášky : 2217-90.D
(22) Přihlášeno : 04 05 90
(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 12 11 91
(47) Uděleno : 24 06 92
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 12 08 92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

A 61 K 31/19
A 61 K 31/70 //
(A. 61 K 31/19, 31:395)

(73) Majitel patentu : ČERNÁ JITKA dipl.chem., PŘISTOUPILOVÁ KAMILA
RNDr.CSc., KODÍČEK MILAN RNDr.CSc.,
ŠPUNDOVÁ MARCELA, Praha

(72) Původce vynálezu : ČERNÁ JITKA dipl.chem., PŘISTOUPILOVÁ KAMILA
RNDr.CSc., KODÍČEK MILAN RNDr.CSc.,
ŠPUNDOVÁ MARCELA, PRAHA

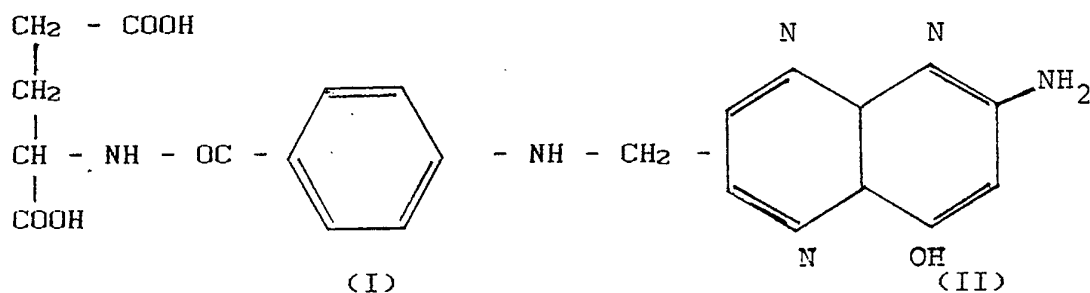
(54) Název vynálezu : Způsob stabilizace folátů

(57) Anotace :

Řešení spadá do oblasti farmaceutického průmyslu. Obsahuje způsob stabilizace labilních folátů, tj. derivátů kyseliny listové, které tvoří většinu členů vitamínové skupiny folacin. Spočívá v šetrné dehydrataci vodných roztoků folátů nebo jejich solí se sacharidy za vzniku ve vodě rozpustných komplexů, které jsou výrazně stabilnější než výchozí foláty. Zvláště stabilní komplexy vznikají za těchto podmínek vazbou na laktosu přímo v mléce, kde působí jako další stabilizátory bílkoviny. Reakce probíhá v roztoku o hmotnostním poměru 10^{-2} až 10^{-6} g folátu na 1 g sacharidu. Tímto postupem je možno připravit lékovou formu biologicky vysoce účinných látek.

Vynález se týká postupu přípravy komplexů látek folátové struktury pro zvýšení jejich stability.

Foláty jsou deriváty kyseliny listové, které se vyskytují v přírodě většinou jako labilní di- a tetrahydroderiváty této látky. Ty z nich, které se vyznačují biologickou aktivitou pro člověka, jsou zahrnuty do početné vitaminové skupiny zvané folacin. Základní strukturní skelet těchto látek tvoří kyselina p-aminobenzoylglutamová (I) a pteridinové jádro (II).



Jedním z fyziologicky nejdůležitějších folátů pro člověka je například kyselina N⁵-methyltetrahydrofolistová (dále mTHF). Převažuje v lidské krvi, tj. v krevním séru a v červených krvinkách, dále v mléce a v této formě přechází i do mozku. Pro svoji vysokou labilitu vůči oxidaci vzdušným kyslíkem nebyla dosud mTHF vyrobena v lékové formě. V zahraničí je na trhu jako diastereoisomér (obě formy v poměru 1:1) Ca nebo Ba soli v zatavených ampulích, plněných pod dusíkem, které slouží jen pro biochemické účely.

Nedostatek folacinu v lidském organismu se dosud léčí jen vysokými dávkami kyseliny listové nebo leukovorinu (formyl mTHF). Obě látky se však zde musejí převést enzymově na fyziologicky účinné formy. Pro léčení celé řady poruch metabolismu tohoto vitamínu, ať již vrozených nebo získaných, by stabilizovaná forma mTHF i popřípadě dalších labilních folátů mohla být i v malých dávkách účinněji využita než dosud užívaná kyselina listová nebo leukovorin.

Předmětem vynálezu je způsob stabilisace labilních folátů šetrnou dehydratací vodných roztoků těchto látek samotných nebo jejich solí, spolu se sacharidy za vzniku stabilního, ve vodě rozpustného komplexu. Reakce probíhá za použití mono-, di- nebo polysacharidů, jakož i maltodextrinů. Zvláště stabilní komplexy folátů lze při dehydrataci vytvořit jejich vazbou na laktosu v mléce o libovolné tučnosti. Předpokládáme, že stabilisujícím faktorem jsou zde přítomné bílkoviny. V tomto případě je z fyziologického hlediska vhodné mléko zakysané kulturou bakterií propionového kvašení, při kterém je do mléka produkována přirozená forma vitamínu B₁₂ a ten usměrní využití folacinu jako donoru jednéuhlíkového zbytku v organismu.

Nejběžnější způsob šetrné dehydratace je sublimační sušení nebo sušení ve vakuu do 60 °C. Sublimačně sušené preparáty se připravují tak, že se ve vhodném poměru rozpustí v destilované vodě folát nebo jeho sůl a sacharidická složka. Roztoky se namrazí na stěnu nádoby v tenké vrstvě a dále podrobí sublimačnímu sušení. U preparátů na bázi mléka se roztok folátu nebo jeho soli promíchá s pasterovaným mlékem, popřípadě s mlékem zakysaným po pasterizaci aktivovanou kulturou *Propionibacterium shermanii*. Postup přípravy vzorku pro sublimační sušení je stejný jak bylo uvedeno pro komplexy se samotnými sacharidy.

Stabilita a výtěžnost komplexů na bázi samotných sacharidů je závislá na vzájemném koncentračním poměru obou složek v roztoku před sušením. Reakce probíhá v roztoku o hmotnostním poměru 10^{-4} až 10^{-6} g folátu na jeden gram látky sacharidické povahy. Na připojeném výkrese je znázorněn graf stability mTHF a jejích komplexů s laktosou při 4 °C.

Křivka 1 - Ca sůl mTHF

2 - preparát s 1 mg mTHF/g laktosy

3 - preparát s 1 mg mTHF/g sušeného propionového mléka.

Obsah mTHF byl u všech stanoven diferenčním mikrobiologickým testem s *Lactobacillus casei* a *Streptococcus faecalis*.

Příklad č. 1: Příprava sublimačně sušeného preparátu na bázi laktosy.

V 500 ml vody se rozpustí 20 g laktosy a přidá se čerstvě připravená reakční směs, obsahující 20 mg mTHF (směs diastereoisomeru). Po jejím rozpuštění a důkladném promíchání se vodný roztok rozlije po cca 150 ml do 500 ml baněk a za rotace se v mrazicí lázni namrazí na stěny nádob. Potom se usuší na sublimačním zařízení. Konečný preparát obsahuje v 1 g 1 mg mTHF.

Příklad č. 2: Příprava sublimačně sušeného preparátu na bázi mléka.

K 3 000 ml mléka o 2 % tučnosti o sušině cca 10 % se přidá čerstvě připravená reakční směs, obsahující 300 mg směsi diastereoisomerů Ca soli mTHF a důkladně se promíchá. Mléko se rozlije po 150 ml do 500 ml baněk a za rotace se v mrazicí lázni namrazí na stěny nádob. Potom se usuší na sublimačním zařízení. Konečný preparát obsahuje v 1 g 1 mg mTHF.

Stabilita dvou typů preparátů, tj. s čistou laktosou a s laktosou v mléce, připravených na bázi Ca-soli mTHF, je uvedena v přiloženém grafu ve srovnání se stabilitou samotné Ca-soli tohoto folátu. Obsah aktivní složky mTHF v komplexu činí u obou preparátů 1 mg/g laktosy. Z průběhu křivek je patrné, že zatímco samotná sůl mTHF se na vzduchu rozloží již prakticky po 2 měsících skladování při 4 °C, zachovává si preparát na bázi čisté laktosy po 5 měsících za stejných podmínek skladování ještě 50 % původní aktivity. Zvláště vynikající je potom stabilita preparátu na bázi propionového mléka, který si za sledovaných podmí-

nek zachovává původní obsah po dobu 6 měsíců.

V praxi mají oba typy stabilisovaných preparátů folátů své specifické využití. Komplexy na bázi čistých sacharidů jsou vhodné pro parenterální použití s tím, že se v suchém stavu rozplní do ampulí nebo penicilinových lahviček evakuovaných nebo plněných pod dusíkem. Těsně před použitím se rozpustí po vstříknutí sterilního fyziologického roztoku, v němž komplexy folátů jsou stále cca 2 h, a to bez přídavku stabilizátoru. Preparáty na bázi mléka, které vykazují podstatně vyšší stabilitu, jsou vhodné pro perorální použití. Vynález tedy umožní aplikaci labilních derivátů kyseliny listové v lékové formě, což dosud možné nebylo.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

Způsob stabilisace folátů, vyznačující se tím, že se foláty, například kyselina N⁵-methyltetrahydrolistová, samotné nebo ve formě svých solí smísí ve vodném roztoku s látkami sacharidické povahy v hmotnostním poměru 10^{-2} až 10^{-6} g folátu na 1 g sacharidu, například laktosy ve vodném roztoku nebo v mléce, s následnou dehydratací při teplotě do 60 °C za nepřístupu vzduchu.

1 výkres

