



ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

(21) 940216.1

(22) 21.12.1994

(31) 1869/90, 1869/90

(32) 28.03.1990, 27.06.1990

(33) HU

(86) PCT/HU 91/00013 (28.03.1991)

(46) 30.06.1999, Бюл. №2, 1999

(71)(73) Терабель Эндюстри С.А. (FR)

(72) Мария Викмон, Йожеф Сейтли, Лайош Сенте, Йожеф Гаал, Иштван Хермец, Агнеш Хорват, Каталин Мармароши, Гabor Хорват, Ирейн Мункачи (HU)

(56) Заявка ЕР №0153999, кл. C08B 37/116, 1985 г.

Заявка ЕР №0127486, кл. A61K 33/535, 1984 г.

Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 1986. 1, С. 445

(54) Комплекс включения 3-морфолиносиднонинина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином или производным циклодекстрина, способ его получения и содержащая его фармацевтическая композиция, способ получения фармацевтической композиции и способ лечения стенокардии и ишемической болезни человека

(57) Изобретение относится к химии, в частности к комплексам включения 3-морфолино-сиднонинина или его солей, или его таутомерного изомера с циклодекстрином, или производным циклодекстрина и способами их получения и к содержащим их фармацевтическим композициям. Комплекс включения 3-морфолиносинонинина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином, или производным циклодекстрина получают взаимодействием 3-морфолиносинонинина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином или производным циклодекстрина в водной среде с последующим выделением комплекса из раствора путем удаления воды. 5 с.п. ф-лы, 6 табл., 6 пр.

Данное изобретение относится к комплексам включения 3-морфолино-синонинина (SIN-1) или его соли или его таутомерной форме "А" с открытым кольцом (SIN-1A: N-нитрозо-N-морфолино-аминоацетонитрил) с производным циклодекстрина, к способу их получения, а также к фармацевтическим композициям, содержащим их в качестве активного компонента.

Форма с открытым кольцом “А” играет важную роль, ее образование преобладает при освобождении радикала NO (окись азота).

Молзидомин (N-этоксикарбонил-3-морфолиносиднонимин. SIN-10) является хорошо известным средством против стенокардии. В терапии он широко применяется для лечения и предупреждения ангиоспазмов в случае сердечной недостаточности в состоянии инфаркта сердца. Терапевтический эффект Молзидомина можно приписать его первому активному метаболиту 3-морфолиносиднонимина, который генерируется в основном в печени в результате ферментативного гидролиза и последующего действия фермента декарбоксилазы. Таким образом, SIN-1 обладает терапевтическими преимуществами по сравнению также с Молзидомином, т.е. его эффект наступает быстрее и является более определенным.

Его недостатком является применение только в виде внутривенных инъекций.

Производные сиднонимина исключительно чувствительны к воздействию света. При облучении искусственным или естественным светом даже в течение короткого промежутка времени, они быстро разлагаются. В процессе фотолиза образуются фармакологически неактивные, но безвредные продукты разложения, в частности, морфолин, аммиак, этиловый спирт, двуокись углерода. Целью некоторых патентов является фотостабилизация производных сиднонимина путем введения различных добавок. (ЕПВ №206219 и к патенту GFR № 3.346.638).

Отрицательного эффекта фоточувствительности можно избежать при хранении в соответствующих условиях сухого вещества, а также растворов (в плотно закрытой темной колбе, обернутой черной бумагой).

Производные сиднонимина чувствительны к экстремальным значениям pH и быстро разлагаются. Конечным продуктом химического и метаболического разложения Молзидомина является SIN-1C (цианометилен-аминоморфолин), неактивный метаболит. При использовании SIN-1 в качестве медикамента возникают проблемы химической стабильности. Вещество быстро разлагается в нейтральном водном растворе, чувствительно к значению pH и стабильно только в сильно кислой среде (pH 1-2). При pH выше 2 оно быстро разлагается до неактивного метаболита SIN-1C, что связано с потерей терапевтической активности. Трансформация SIN 1→SIN-1C является результатом катализируемого основаниями каталитического разложения. Процесс сильно зависит от величины pH, т.е. для того, чтобы степень разложения достигла 10 % (SIN-1C), необходимо 53 сек при pH 8, 15 часов при pH 6, 67 дней при pH 4 и 13 лет при pH 1-2. (Chem. Pharm. Bull. 19/6, 1079, 1971).

SIN-1 также разлагается в разбавленном водном растворе при хранении в рассеянном свете уже через 1-3 дня. Разложение можно проследить непосредственно по УФ-спектру. Максимум поглощения сдвигается постепенно с 291 ± 1 нм до 278 ± 1 нм, тогда как величина поглощения возрастает непрерывно, что согласуется с литературными данными: величина λ_{max} для SIN-1 составляет 291 ± 1 нм, удельный коэффициент поглощения $A^{1\%} = 520$, тогда как для SIN-1C $\lambda_{\text{max}} = 278 \pm 1$ нм, его молярный коэффициент поглощения $\epsilon = 17000 A^{1\%}_{1\text{cm}} = 1220$.

При пероральном введении SIN 1 неэффективен, при pH 1-2 находится в сильно ионизированном состоянии, которое предпочтительно в смысле химической стабильности, но, с другой стороны, не благоприятствует ресорбции из желудочно-кишечного тракта. В свете вышеизложенных фактов SIN 1 при движении из кишечника при более высоких значениях pH быстро превращается в неактивный метаболит SIN-1C. Этому превращению благоприятствуют низкие дозы SIN 1, поскольку при низких концентрациях (порядка мг/мл) гидролитическое разложение более явно выражено.

SIN-1 поступает на рынок в виде гидролиза для внутривенного введения в виде ампул с лиофилизованным порошком, содержащих по 2 мг активного ингредиента и 40

мг сорбита. Содержимое ампулы нужно перед использованием растворить в 1 мл дистиллированной воды.

Известно, что образование комплекса с декстрином является подходящим способом стабилизации различных агентов по отношению к действию тепла, света и к основному или кислотному гидролизу. (Srejty: Cyclodextrin Technology, Kluwer, Dordrecht, 1988, pp. 211-217).

Задачей данного изобретения является получение такого нового агента, с помощью которого можно затруднить трансформацию SIN 1→SIN-1C даже в нейтральном водном растворе и, соответственно, при физиологических значениях pH.

Поставленная задача решается новым комплексом включения 3-морфолиносиднонамина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином, или производным циклодекстрина, преимущественно, β - или γ -циклодекстрином, гидроксипропил- β -циклодекстрином, гептакис-2,6-диметил- β -циклодекстрином, гептакис-2,3,6-три-0-метил- β -циклодекстрином, ионным водорастворимым циклодекстриновым полимером (CDPSI) с молекулярным весом менее 10000.

Было определено, что циклодекстрины сами по себе эффективно стабилизируют разбавленные водные растворы, полученные из композиций для инъекций, содержащих SIN 1.

Новый комплекс включения получают взаимодействием 3-морфолиносиднонамина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином, или производным циклодекстрина, преимущественно β -циклодекстрином, гидроксипропил- β -циклодекстрином, гептакис-2,6-диметил- β -циклодекстрином, гептакис-2,3,6-три-0-метил- β -циклодекстрином, соответственно, в водной среде с последующим выделением комплекса из раствора путем удаления воды.

Задачей настоящего изобретения также является создание новой стабильной фармацевтической композиции на основе сиднонамина для стабильного применения в виде инъекций, перорально или местно.

Поставленная задача решается фармацевтической композицией, содержащей комплекс включения 3-морфолиносиднонамина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином, или производным циклодекстрина, преимущественно, β -циклодекстрином, гидроксипропил- β -циклодекстрином, гептакис-2,3,6-три-0-метил- β -циклодекстрином, ионным водорастворимым циклодекстриновым полимером (CDPSI) с молекулярным весом менее 10000, в качестве активного компонента. Данная композиция получается путем смешивания комплекса включения с фармацевтически приемлемыми целевыми добавками.

Новая фармацевтическая композиция эффективна при лечении стенокардии и ишемической болезни человека, путем введения в организм комплекса включения в дозе 6-800 мг в день.

Наличие взаимодействия между SIN 1 и циклодекстринами доказано с помощью следующей последовательности испытаний.

Из композиций для инъекций, содержащих SIN 1, готовят водный раствор концентрации около 10 мг/мл и растворяют в полученных растворах при перемешивании 20-40 мг циклодекстрина или производного циклодекстрина.

Растворы хранят при комнатной температуре (20-22°C) при рассеянном освещении и через определенные промежутки времени (ежедневно) снимают УФ-спектры растворов в интервале $\lambda=220-350$ нм. Для контроля используют, соответственно, только водный раствор 0.05 н раствор хлористоводородной кислоты. Проверяют pH растворов циклодекстринов - с целью определить, не изменяют ли существенно циклодекстрин и, соответственно, его производное, значение pH воды. Значения pH используемых растворов циклодекстринов большей концентрации отличаются от pH дистиллированной воды только в пределах ± 0.2 . Сдвиг спектра УФ подавляет добавление CDPSI, растворимого ионного

полимера β -циклогекстрина (средняя молекулярная масса 3500, содержание β -CD 54 %, содержание COO 4.2 %) (патент НУ №191.101). Сдвиг спектра не выявляется даже после хранения в течение 2 недель, тогда как сохранившиеся в аналогичных условиях водные растворы превращались практически полностью в SIN 1C за 2-3 дня.

Явно выражен также замедляющий, затрудняющий разложение эффект Димеба (DIMEB = 2,6-ди-0-метил- β -циклогексстрин). В присутствии 20 мг/мл Димеба на спектре раствора после хранения в продолжение 6 дней выявлен сдвиг всего лишь около 1 нм. Исследован также стабилизирующий эффект Тримеба (TRIMEB = 2,3,6-три-0-метил- β -циклогексстрин), γ -CD, β -CD и гидроксипропил- β -CD. Ряд эффективности, выведенный из величин сдвигов УФ-спектра, выглядит следующим образом:

CDPSI > Димеб > Тримеб > β -CD \geq HP- β -CD.

Из оценки влияния, которое оказывают различные циклогекстрины на гидролитическое разложение SIN 1 и, в частности, CDPSI, можно сделать вывод о наличии комплексного взаимодействия.

В вышеописанной серии испытаний циклогекстрины и, соответственно, их производные использовались в очень большом избытке (10 мг/мл SIN 1 против - 20 мг/мл циклогексстринга).

Последовательность испытаний повторяют в том же порядке, но CDPSI вводят только в 10-кратном, 20-кратном избытке, что соответствует весовому соотношению SIN 1 : CDPSI в комплексе, содержащем, соответственно, 10, 5 % активного ингредиента. Низкая терапевтическая доза SIN 1 позволяет использовать комплекс, содержащий менее 5 % активного ингредиента, что соответствует молярному соотношению SIN 1 : CDPSI = 1:2. В таком диапазоне концентраций стехиометрическое измерение не дает описательной картины, по этой причине степень разложения определяется тонкослойной хроматографией следующим образом.

Порцию раствора 10 мл добавляют по каплям на силикагелевую пластину Kieselgel 60 F₂₅₄ (10x10 см, фирма Merck). Подвижная смесь, циклогексан : этилацетат в отношении 1:1. Ванну со смесью растворителей выдерживают в течение 30 минут для насыщения. На пластинку добавляют также по каплям эталонный раствор. После нанесения пятна пластинку высушивают в токе холодного воздуха, защищая от света, и оставляют до подъема подвижной фазы на высоту 15 см. В это время ванна с растворителями находится в темном месте. После испарения растворителя пластинку визуально исследуют в УФ-свете с длиной волны 254 нм. SIN 1 проявляется при R_f 0.05, а SIN 1C - при R_f 0.36. В каждом случае обнаружено, что в растворах, содержащих CDPSI, интенсивность пятна SIN 1C визуально меньше, чем в водных растворах.

Поскольку превращение SIN 1 в неактивный метаболит в значительной степени зависит от величины pH, измерения проводятся в фосфатных буферах с pH 6.4, 7.0 и 7.6, согласно фармакопее. В каждом случае сравнивают буфер и буферные растворы, содержащие 20 мг/мл CDPSI, все они подвергаются УФ-спектрофотометрии после соответствующего разбавления водно-спиртовой смесью, исследуют интенсивность продукта разложения SIN 1 с помощью тонкослойной хроматографии.

Результаты спектрофотометрических измерений приведены в таблице 1.

Изменение λ_{max} в зависимости от времени (1 мг/мл SIN 1 + 20 мг/мл CDPSI).

Уменьшение максимального значения длины волны примерно на 13 нм (с 291 нм по 278 нм) соответствует полному разложению SIN 1 до SIN 1C.

В буфере с pH 6.4 в присутствии CDPSI даже через 6 дней $\Delta\lambda = 7$ нм в противоположность контрольной величине $\Delta\lambda = 12$ нм. Воспроизводимость УФ-максимума в данных условиях находится в пределах ± 0.5 нм, и, таким образом, разницу можно считать значительной. Через один день хранения разницу $\Delta\lambda$ все еще можно было измерить, напротив, при pH 7.6 стабилизирующий эффект CDPSI едва ли превалирует более длительный период времени.

В подвергавшихся тестам растворах молярное отношение SIN 1 : CDPSI составляет около 1 : 2, что является необходимым минимумом для комплексообразования в растворе. Стабилизирующий эффект в растворе 10-кратного избытка (10 мг/мл) - соответствующего молярному отношению 1:1 - CDPSI едва имеет место. Степень разложения можно также проследить с помощью тонкослойной хроматографии. Интенсивность пятна SIN 1C, выявленного при R_f 0.36 в буфере с pH 6.4, отличается заметно даже после хранения в продолжение недели, в буфере с pH 7.0 и 7.6 после хранения в течение 1 дня наблюдается ощутимое различие в интенсивности пятна SIN 1 при R_f 0.04. В буфере с pH 7.0 все еще заметен неизменный SIN 1, тогда как при pH 7.6 он практически не определялся.

Равновесие диссоциации комплекса в растворе можно сместь за счет добавления избытка циклодекстрина. При введении предельно большого избытка (1000, 2000-кратного) на спектре композиций для инъекций выявлен сдвиг всего $\Delta\lambda + 1$ нм - в дистиллированной воде после хранения в течение 1 недели, в то время как контрольный раствор практически разлагается.

Количественные изменения степени разложения проводятся также методом ЖХВР.

Условия разделения SIN 1 - SIN 1C методом ЖХВР.

Оборудование:	Модуль подачи растворителя
Bechman	114 М.
Детектор переменной длины волны	165.
Интегратор Hewlett-Packard	3396А.
Колонка: колонка для аналитических целей Ultrasphere ODS	4.6 x 150 нм, 5 μ .
Элюэнт: 0.05 М ацетат натрия	700 мл;
Ацетонитрил	300 мл;
Тетрагидрофуран	2 мл;
скорость течения	1 мл/мин;
давление	20 бар;
длина волны измерения	278.290 нм;
объем образца	20 л;
чувствительность	0.1 А;
скорость движения бумаги	0.5 см/мин;
время удерживания:	t_R SIN 1 - 2.9 мин, t_R SIN 1C - 4.2 мин.

Результаты.

1. Растворы SIN 1 концентрации 0.5 мг/мл в фосфатном буфере хранили, защищая от света, при комнатной температуре. Для образования комплекса вводят 50 мг/мл (100-кратное количество) CDPSI. После хранения в течение 5 недель снимают хроматограммы ЖХВР.

Анализ хроматограмм дан в таблице 2. CDPSI, вводимый в 100-кратном весовом избытке (в молярном отношении около 10:1) в значительной степени затрудняет разложение SIN 1. Полученный результат находится в соответствии с результатами тонкослойной хроматографии.

2. Испытания проводятся также в фосфатном буфере с pH 7 с аналогичными концентрациями (0.5 мг/мл SIN 1 и 50 мг/мл CDPSI).

Исследуют хроматограммы, полученные после хранения в течение 4 дней.

Анализ хроматограмм дан в таблице 3.

Значение pH растворов после хранения:

Контроль: 6.57

CDPSI: 6.2.

Можно считать доказанным, что в пределах применяемых концентраций CDPSI затрудняет, даже при pH 7, превращение SIN 1 в SIN 1C, которое представляет собой неактивный метаболит.

Далее мы провели испытания на стабильность инъекций SIN 1 в разбавленном водном растворе.

Из ампулы, в которой содержится лиофилизованный порошок SIN 1, был приготовлен водный раствор концентрации 50 г/мл, после чего было добавлено 20 мг/мл CDPSI. Растворы хранились при комнатной температуре, и время от времени в них определялось количество продукта разложения SIN 1C.

Анализируют хроматограммы, снятые через 1, 4, 11 дней.

Анализ хроматограммы дан в таблице 4.

Причем, комплексы SIN 1 с циклодекстринами, в частности, с CDPSI, комплекс после приготовления содержит значительные количества промежуточного продукта SIN 1A. Процесс превращения SIN 1 → SIN 1A → SIN 1C в присутствии циклодекстринов исследовали также в 0.02 М ацетатном буфере при pH 5.5. Удивительно, но наиболее явно выраженным оказался эффект β-CD, более чем в 7 раз больше количества SIN 1A было обнаружено в присутствии β-CD, чем в контроле (SIN 1A определяли с помощью ЖХВР).

Исследуя биологический эффект согласно данному изобретению, обнаруживают, что в то время как SIN 1, вводимый перорально в дозе 1 мг/мл, не обладает активностью (кардиозащитная активность на крысах 11 %), при пероральном введении, помимо этого активного ингредиента, SIN 1-CDPSI кардиозащитная активность составляет 42.2 %.

Хорошую биологическую активность комплекса SIN 1-CDPSI в испытаниях и кардиозащитную активность для перорального введения можно приписать присутствию в твердом комплексе SIN 1A. Образование “A”-формы, которая играет ключевую роль в возникновении биологического эффекта, невозможно при pH среды кишечника, она может возникнуть *in-vitro* из соединения SIN 1 в результате выдержки при щелочных pH. При растворении CDPSI-комплекса в дистиллированной воде в полученном растворе можно определить значительные количества SIN 1A.

По-видимому, превращение SIN 1 - SIN 1A промотируется циклодекстринами, и в то же время очень неустойчивый, чувствительный к кислороду SIN 1A стабилизируется комплексообразованием, которое приводит к замедлению превращения SIN 1A → SIN 1C. Более мягкое начало, и большая продолжительность действия обусловлена замедленным выделением окиси азота из связанного в комплексе SIN 1.

В таблице 5 приводится содержание комплексов SIN 1 с различными декстринами, полученных согласно примеру 2, которое измеряется непосредственно после получения с помощью ЖХВР. Как стандарт используют физическую смесь SIN 1 того же состава, приготовленную таким же способом с лактозой.

Результаты и выводы.

Релаксирующие эффекты комплексов SIN 1-циклодекстрин и нормального SIN 1 исследуют при концентрации 1 или 2 М.

Все четыре комплекса релаксируют длительное сокращение деполяризованных калиевых скоплений с максимальным эффектом 43-53 %. SIN 1 (1 μM) оказывается несколько более эффективным - релаксация 58 %.

Максимальная релаксация зарегистрирована для комплексов SIN 1 в интервале от 23 до 32 минут после употребления, тогда как T_{max} для SIN 1 наступает через 18 минут. Эта разница статистически значительна. Продолжительность действия, измеренная как T₂, оказывается больше в случае комплексов с циклодекстрином (от 62 до 88 минут), чем для SIN 1 (47 минут). Эта разница оказывается также статистически заметной. Таким образом, комплексы SIN 1 - циклодекстрин демонстрируют более мягкое начало и большую продолжительность действия, чем нормальный SIN 1.

В связи с тем, что, как предполагают, релаксирующий эффект SIN 1 обусловлен выделением окиси азота в результате процесса окислительного разложения, можно сделать вывод о замедлении процесса разложения в результате образования комплексов SIN 1 с циклодекстринами. Таким образом, более мягкое начало, и большая продолжитель-

ность действия обусловлены, по-видимому, замедленным выделением окиси азота из комплексов SIN 1 -циклодекстрин.

В качестве производного циклодекстрина комплексы включения по данному изобретению содержат преимущественно ионный водорастворимый полимер циклодекстрина (CDPSI) (молекулярный вес < 10000), гептакис-2,6-диметил- β -циклодекстрин (Димеб), гептакис-2,3,6-три-0-метил- β -циклодекстрин (Тримеб) и β - или γ -циклодекстрин.

Для получения твердого комплекса включения можно использовать также гидроксипропил- β -циклодекстрин.

Комплексы включения по данному изобретению получают по реакции взаимодействия 3-морфолиносиднонамина или его солей в растворителе с производным циклодекстрина, и при желании комплекс выделяют из раствора путем удаления воды либо очень энергичным размалыванием смеси 3-морфолиносиднонамина или его солей и производного циклодекстрина.

Выделять комплекс из раствора можно путем лиофилизации, сушкой с распылением, выпариванием под вакуумом при низких температурах и вакуумной сушкой.

Растворяют SIN 1 вместе с 1-40 молями CDPSI или Димеба в 1-500 мл дистиллированной воды, что рассчитывается на 1 моль активного ингредиента, после чего осуществляют обезвоживание, как указывалось выше. Молярное отношение полимера CDPSI вычисляется на β -CD. Таким образом, при введении полимера с содержанием β -CD 50 % и средней молекулярной массой 3500 состав комплекса с соотношением 1:1 соответствует примерно 8 %, а молярное отношение 2:1 - примерно 4.5 %. Взаимодействие комплекса в растворе иллюстрируется тестом на проникновение через мембрану.

Используют целлофановую мембрану visking - типа (средний диаметр пор 24 \AA). В донорную ячейку помещают водный раствор SIN 1 концентрации 1 мг/мл, тогда как в приемном отделении аппарата с мембраной находится дистиллированная вода. Растворы перемешивают магнитной мешалкой и выдерживают при 37±1°C. Через соответствующие промежутки времени отбирают пробы раствора и измеряют концентрацию SIN 1, проникшего из донорной ячейки, с помощью УФ-спектроскопии.

Испытания повторяют в присутствии различных циклодекстринов при различных концентрациях в донорном отделении элемента.

Промежутки времени, необходимые для диффузии 50 % SIN 1 в присутствии CDPSI при различных концентрациях, перечислены в таблице 6.

Полупериод диффузии SIN 1 в присутствии CDPSI.

Комплексы включения, полученные согласно данному изобретению, могут использоваться в производстве фармацевтических композиций, соответственно, для стабильного применения в виде инъекций, перорально или местно.

Дозы комплексов включения согласно данному изобретению могут меняться в зависимости от возраста, веса тела и состояния субъекта, способа применения, количества приемов и т.п., но колеблются от 6 до 800 мг в день, предпочтительно составляют 10-400 мг в день.

Эффект замедленного выделения преобладает, в частности, в случае использования фармацевтической композиции в виде таблеток, предназначенных для приема один раз в день, микрокапсул и мазей, очень подходящих, соответственно, для введения через кожу. Фармацевтические композиции согласно данному изобретению готовят обычным способом. Используют адьюванты и носители, применяемые обычно для изготовления фармацевтических препаратов.

Подробности изобретения иллюстрируют приведенные ниже примеры, которыми не ограничивается изобретение.

Примеры.

1. Получение комплекса SIN 1-CDPSI в результате лиофилизации.

Растворяют в 200 мл дистиллированной воды 15 г (6.6 ммолей) полимера CDPSI, после чего к раствору добавляют 1.1 г (5.3 ммоля) SIN 1 - HCl=[. Материалы растворяются почти мгновенно, получается чистый, прозрачный раствор, который немедленно замораживают и удаляют воду путем лиофилизации, следя, чтобы по ходу всех процессов вещество подвергалось минимальному по возможности воздействию света.

Рекомендуется, следовательно, заворачивать перегонный куб в черную бумагу. Полученный продукт представляет собой очень светлый, рыхлый порошок с содержанием активного ингредиента, по данным спектрофотометрии: $6.5 \pm 0.5 \%$, что соответствует молярному отношению около 1:1.

Тест, доказывающий факт комплексообразования: термогравиметрия (TC), дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) и термический анализ (ТА) показали наличие характерных различий между SIN 1 в составе физических смесей SIN 1 - CDPSI и в комплексе SIN 1 - CDPSI. При температурах 60 - 110°C из активного агента SIN 1 удаляется около 8 % неорганического вещества, возможно, что это вода. Разложение при плавлении вещества начинается при температуре 170 - 180°C, носит взрывной характер, и в очень узком температурном интервале из системы удаляется 70 % введенного агента.

В интервале температур 220 - 230°C разложение замедляется, до 350°C можно зарегистрировать 87 % потерю веса. Для идентификации активного ингредиента, не входящего в состав комплекса, можно использовать пик на кривой ДСК в интервале температур 190 - 200°C и пик на кривой подъема температуры при 190°C, вызывающий даже в атмосфере аргона экзотермическое изменение энталпии.

Кривые термического анализа физической смеси SIN 1 - CDPSI, приготовленных непосредственно перед измерением, можно рассматривать как наложение кривых исходных веществ.

Кривые комплекса демонстрируют значительные расхождения по сравнению с вышеописанными, указанные пики разложения SIN 1 не проявляются, что означает, что действительно SIN 1 образует комплекс включения с CDPSI.

Рентгенограммы порошков.

Согласно данным рентгеновской дифрактометрии структура комплекса SIN 1 - CDPSI аморфна. Характерные рефлексы SIN 1 исчезают. Известна аморфная структура CDPSI. Степень кристалличности SIN 1, подвергнутого аналогичной обработке, но без CDPSI, хотя и снижается, но переход к полностью аморфной структуре невозможен только в результате лиофилизации. В дифрактограмме комплекса отсутствуют пики отражения 2~, относящиеся к слабо кристаллизованной форме и характерные для свободного (не связанного в комплексе) SIN 1.

2. Получение комплекса SIN 1 - CDPSI путем лиофилизации

Растворяют в 200 мл дистиллированной воды 15 г полимера CDPSI (6.6 ммолей) (содержание β -CD 53 %, содержание COO 4.2 %). В полученном растворе растворяют 0.7 г (3.3 ммоля) после чего раствор подвергают обработке согласно методике примера 1.

Содержание активного ингредиента в полученном продукте составляет $4.5 \pm 0.2 \%$, что соответствует молярному отношению приблизительно 1:2.

3. Получение комплекса SIN 1 - CDPSI с высоким и контролируемым содержанием SIN 1 A.

Полученный продукт подвергают второй сушке по методике, описанной в примере 2, с целью удаления связанной в комплекс воды. Продукт сушат при 60°C под вакуумом в течение 3 часов (до постоянного веса). Потери при сушке: $4.5 \pm 0.2 \%$.

В процессе нагрева содержание SIN 1A возрастает примерно в пять раз, оно увеличивается с 1.08 до 5.1 %, причем отношение SIN 1A/ SIN 1C также изменяется благоприятно (с 10 до 17). Хранение высушенных комплексов при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение более, чем 3 месяцев не приведет практически к изменению содержания SIN 1A и отношения SIN 1A/ SIN 1C.

В контрольном (не подвергнутом тепловой обработке) образце при хранении содержание SIN 1A также возрастает с 1.08 до 1.9 %, в то же время соотношение SIN 1A/SIN 1C упало (изменяется от 10 до 3).

Получение комплекса SIN 1 - CDPSI с высоким содержанием SIN 1A и контролируемым составом возможно при кратковременной тепловой обработке лиофилизированного комплекса SIN 1 - CDPSI.

4. Получение комплекса SIN 1 - Димеб.

Растворяют в 100 мл дистиллированной воды 14 г Димеба (10.3 ммолей)

(содержание влаги 2 %). При перемешивании к раствору добавляют 1.03 г (5 ммолей) SIN 1. Полученный прозрачный раствор, защищенный от действия света, подвергают обработке, описанной в примере 1. Продукт представляет собой рыхлый белый порошок с содержанием активного ингредиента $6.5 \pm 0.2 \%$, что соответствует молярному отношению SIN 1 : Димеб = 1:2.

5. Получение мази для применения через кожу с содержанием SIN 1 10 мг и мази - 1/2 г.

В 20 мл дистиллированной воды растворяют 151 мг комплекса SIN 1 - Димеба, полученного по методике примера 3 (содержание активного ингредиента 6.5 %). К раствору, защищенному от действия света, добавляют при интенсивном перемешивании 50 мг KLUCHEL - HF (гидроксипропилцеллюлозы). Таким образом, получают вязкий, с трудом перемешиваемый раствор, который выдерживают при комнатной температуре в течение одного дня.

В результате образуется прозрачный гель, в 2 г которого содержится 10 мг SIN 1.

6. Таблетки SIN 1 с содержанием активного ингредиента 2 мг на таблетку.

80 мг комплекса SIN 1 - CDPSI, содержание активного ингредиента 2.5 %

40 мг кукурузного крахмала

128 мг молочного сахара

2 мг стеарата магния

Общий вес таблетки: 250 мг.

Таблетки готовят обычным способом, а именно непосредственным прессованием.

Таблица 1

время (дни)	pH 6.4 буфер + CDPSI		pH 7.0 буфер + CDPSI		pH 7.6 буфер + CDPSI	
	λ_{max}		λ_{max}		λ_{max}	
после приготовления						
0	291.5	291.9	290.6	291.0	291.2	290.9
1	289.0	290.5	280.4	285.5	276.4	278.8
4	284.9	288.5	-	-	-	-
6	279.8	283.9	277.3	278.8	277.6	277.9

Таблица 2

Активный ингредиент содержание:	контроль*	CDPSI-комплекс
SIN 1	0.016	0.17
SIN 1C	0.23	0.16

* Примечание: данные контрольных измерений относятся к дистиллированной воде, а не к буферу.

Таблица 3

Активный ингредиент содержание:	контроль	CDPSI-комплекс
SIN 1	0.041	0.23
SIN 1C	0.125	0.064

Таблица 4

Содержание SIN 1C, мг/мл		
время (дни)	контроль	комплекс с CDPSI
исходный	0.1	0.1
1 день	0.8	0.6
4 дня	3.9	0.94
11 дней	5.6	1.8

Таблица 5

Комплекс	Содержание SIN 1 A, % (приводится в эквиваленте SIN 1 C)
SIN 1 - CDPSI	1.27
SIN 1 - β - CD	0.08
SIN 1 - Димеб	0.06
SIN 1 - HPβCD	0.115
SIN 1 - лактоза = контроль	-

Таблица 6

Наименование	T ₅₀ % (час)
SIN 1 отдельно	0.9
+ CDPSI 25 мл	3.5
+ CDPSI 50 мл	5.0

Формула изобретения

1. Комплекс включения 3-морфолиносиднонимина или его соли, или таутомерного изомера с циклодекстрином или производным циклодекстрина, преимущественно, β- или γ-циклодекстрином, гидроксипропил-β-циклодекстрином, гептакис 2,6-диметил-β-циклодекстрином, гептакис-2,3,6-три-о-метил-β-циклодекстрином, ионным водорастворимым циклодекстриновым полимером (CDPSI) с молекулярным весом менее 10000.

2. Способ получения комплекса включения 3-морфолиносиднонимина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином или производным циклодекстрина, преимущественно, β-циклодекстрином, гидроксипропил-β-циклодекстрином, гептакис-2,6-диметил-β-циклодекстрином, взаимодействием 3-морфолиносиднонимина или его соли, или его таутомерного изомера с циклодекстрином или производным циклодекстрина, преимущественно, β-циклодекстрином, гидроксипропил-β-циклодекстрином, гептакис-2,6-диметил-β-циклодекстрином, гептакис-2,3,6-три-о-метил-β-циклодекстрином, соответственно, в водной среде с последующим выделением комплекса из раствора путем удаления воды.

3. Фармацевтическая композиция, включающая производное сиднонимина и фармацевтически приемлемые целевые добавки, отличающаяся тем, что в качестве производного сиднонимина она содержит комплекс включения, охарактеризованный в п.1.

4. Способ получения фармацевтической композиции, включающей смешение производного сиднонимина с фармацевтически приемлемыми целевыми добавками, отличающейся тем, что в качестве производного сиднонимина используют эффективное количество комплекса включения, охарактеризованного в п. 1.

5. Способ лечения стенокардии и ишемической болезни человека введением в организм производного сиднонимина, отличающейся тем, что в качестве производного сиднонимина используют комплекс включения, охарактеризованный в п. 1, в дозе 6 - 800 мг в день.

Составитель описания

Масалимов Ф.Я.

Ответственный за выпуск

Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03