



ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО ПО НАУКЕ И
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(19) **KG** (11) **333** (13) **C2**

(51)⁷ **C08B 37/16;**

A61K 31/715, 31/724

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

(21) 960481.1

(22) 09.08.1996

(31) 07/918702

(32) 27.07.1992

(33) US

(46) 03.05.2001, Бюл. №4

(86) PCT/US 93/06880 (26.07.1993)

(71)(73) Дзе Университи оф Канзас (US)

(72) Валентино Ж. Стелла, Роджер Раевски (US)

(56) Патент US №4535152, кл. C08B 37/16, 1985

Патент US №4727064, кл. A61K 31/70, 1988

(54) Очищенные производные сульфоалкильных эфиров циклодекстрина или их смесь, клатратный комплекс производных циклодекстрина с лекарственным веществом и фармацевтическая композиция

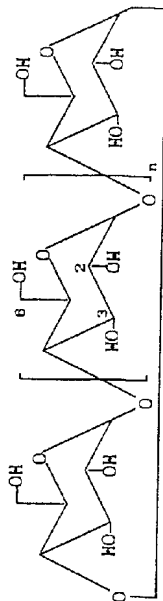
(57) Описаны очищенные производные сульфоалкильных эфиров циклодекстрина или их смесь, где производное циклодекстрина имеет формулу, приведенную в тексте описания, где $n=4, 5, 6$, R_1-R_9 - каждый независимо означает O^- или $O-(C_{2-6} \text{ алкилен})-SO_3^-$ и, по меньшей мере, один из R_1 и R_2 является независимо указанной $O-(C_{2-6} \text{ алкилен})-SO_3^-$; и S_1-S_9 являются, каждый независимо, фармацевтически приемлемым катионом. Указанные производные содержат от 1 до $(3n+6)$ C_{2-6} сульфоалкильных групп на 1 молекулу циклодекстрина, а содержание недериватизированного циклодекстрина превышает 5, но не менее 50 мас. %. Описан также клатратный комплекс циклодекстрина с лекарственным веществом и фармацевтическая композиция для орального применения. 3 с. и 45 з.п. ф-лы, 8 табл., 13 ил.

Изобретение относится к производным циклодекстрина и к их фармацевтическому применению в качестве клатрат-образующих агентов.

Циклодекстрины (ЦД) являются группой циклических гомологов олигосахаридов, которые получены при разложении крахмала под действием фермента циклодекстрин трансгликозилазы, вырабатываемого бактерией *Bacillus macerans*. Существуют опубликованные способы как для получения циклодекстрин трансгликозилазы, так и для получения и выделения циклодекстринов.

Циклодекстрины - это циклические молекулы, содержащие шесть или более α -D-глюкопиранозных единиц, связанных в положениях 1, 4 путем α связывания, как в амилозе. Как следствие этого циклического строения молекула отличается тем, что не имеет ни восстанавливающей концевой группы, ни невосстанавливающей концевой группы.

Молекула представлена ниже схематической формулой (I), где гидроксильные группы показаны во 2, 3 и 6-положениях глюкопиранозных единиц.



Переменная n может быть числом от 4 до 6 или выше.

Когда $n = 4$, молекула является обычно известной как α -циклодекстрин или циклогексаамилоза, когда $n = 5$, молекула обычно известна как β -циклодекстрин или циклогептаамилоза, и, когда $n = 6$, молекула обычно известна как γ -циклодекстрин или циклотатамилоза. Когда здесь делается отсылка к "циклодекстрину", это подразумевает включение вышеуказанных форм циклодекстрина, а также молекул, где $n > 6$.

Предлагают, что вследствие циклического строения конформации α -D-глюкопиранозных единиц ограничено свободное вращение вокруг глюкопиранозных связей, и циклодекстрины существуют в виде молекул конической формы с первичными гидроксильными группами, расположенными в маленьком конце конуса и вторичными гидроксильными группами, расположенными в большом открытом конце конуса. Полость наполнена водородными атомами у C_3 и C_5 вместе с глюкозидными кислородными атомами с получением относительно липофильной полости, но с гидрофильной внешней поверхностью.

В результате двух областей с различной полярностью и изменений в растворимой структуре, вызванных комплексообразованием, циклодекстрины обладают способностью образовывать комплексы с различными органическими и неорганическими молекулами. Образование циклодекстриновых комплексов включения с молекулами относится к явлению "хозяин-гость".

Результатом уникальных свойств циклодекстринов является их коммерческое использование в сельском хозяйстве при обработке водой в качестве поверхностно-активных веществ и в системах доставки лекарств. Результатом применения циклодекстринов в области фармации является микроинкапсулирование со своевременным высвобождением лекарства, улучшение стабильности и увеличение растворимости в воде различных лекарств.

Обычно циклодекстрины известны как улучшающие скорость растворения лекарств. Однако, кроме того, комплексы, образованные ими, устойчивы в водном растворе, поэтому улучшение растворимости сопровождается повышением концентрации насыщения лекарства. К сожалению, сам β -циклодекстрин, который образует наиболее устойчивые комплексы с большинством лекарств, имеет наименьшую растворимость в воде, поэтому лекарства, которые образуют с ним комплекс, не могут быть введены в раствор в терапевтических концентрациях. Причиной этого является кристаллическая структура β -циклодекстрина.

Известно, что химическая модификация циклодекстрина изменяет их свойства. Электронейтральные циклодекстрины были описаны Parmerter et al (патент US №3453259) и Gramera et al (патент US №3459731). Они получены реакцией конденсации циклодекстринов с различными эпоксидами или органическими галогенидами.

Другие производные включают циклодекстрины с катионными свойствами (Parmerter (I); патент US №3453257), нерастворимые поперечносвязанные циклодекстрины (Solms; патент US №3420788), и циклодекстрины с анионными свойствами (Parmerter (II); патент US №3426011). К исходному циклодекстрину для получения производных циклодекстрина с анионными свойствами должны быть присоединены карбоновые кислоты, кислоты фосфора, фосфиновые кислоты, фосфоновые кислоты, фосфорные кислоты, тиофосфоновые кислоты, тиофосфоновые кислоты и сульфоновые кислоты (см. Parmerter (II), *supra*).

Циклодекстрины нашли применение в фармацевтических системах доставки. В качестве "хозяина" для "гостевых" лекарственных молекул эти комплексы включения (клатрат) показали повышение водной растворимости фармацевтических препаратов с существенно низкой водной растворимостью (Jones; патент US №4555504).

Эта солюбилизация приводит к улучшению биологической доступности некоторых лекарств. В виде клатратных комплексов некоторые лекарства показывают улучшенную химическую стабильность в водных растворах (Harada et al; патент US №4497803 и Hayash; et al; патент US №3816394). Кроме того, циклодекстрины оказываются эффективными при регулировании высвобождения высокорастворимых в воде фармацевтических препаратов (Friedman; патент US №4774329).

Несмотря на фармацевтическую полезность, циклодекстрины также имеют некоторые ограничения. Использование циклодекстринов в клинической практике ограничивается только оральными и формами для местного применения, так как циклодекстрины проявляют нефротоксичность, вызываемую введением неметаболизирующегося тела. Поскольку ферменты млекопитающих специфичны для разрушения линейных молекул крахмала циклодекстрины остаются в большой степени неметаболизированными и скапливаются из-за их рециркуляции и реадсорбции в ближайших трубчатых клетках.

Циклодекстрины и их производные являются, главным образом, кристаллическими твердыми продуктами, и концентрирование в почечной ткани сопровождается образованием кристалла, вызывающего некротическое повреждение клеток. Несмотря на образование водорастворимых клатратных комплексов кристаллические циклодекстриновые комплексы лекарств ограничивались при их использовании сублигвальным введением. Были предприняты попытки ингибирования образования кристалла в циклодекстриновых лекарственных комплексах путем преобразования исходных циклодекстринов неспецифическим методом с получением аморфных смесей, содержащих много компонентов циклодекстриновых производных (Pitha; патенты US №№4596795 и 4727064). Эти смеси предотвращают процессы кристаллизации, наблюдаемые для единичных соединений, обеспечивая снижение токсичности.

Сущность изобретения.

Изобретение касается очищенных циклодекстриновых производных, представляющих как индивидуальные производные, так и смеси производных. Они получают нагреванием циклодекстринового исходного материала с реагентом(ами), который(ые)

вводит(ят) особый заместитель анионного типа, например, $(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ анионный заместитель, в молекулу циклодекстрина. Это позволяет значительно повысить растворимость в воде и успешно уменьшить степень токсичности. У более высокозамещенных циклодекстриновых производных обнаружено, что они не вызывают существенных повреждений в качестве клатратобразующих агентов для парентеральных фармацевтических препаратов и других, связанных с этим применением.

На фиг. 1 показано кумулятивное выделение циклодекстрина с мочой у мышей для случаев непреобразованного циклодекстрина, гидроксипропилпроизводного циклодекстрина и двух сульфоалкил циклодекстриновых производных по изобретению; на фиг. 2 и 3 - данные, показывающие, что более высокозамещенные алкилсульфоновые кислоты по настоящему изобретению вызывают меньший разрыв мембраны, что установлено исследованиями гемолиза красных кровяных клеток при сравнении монозамещенных производных алкилсульфоновой кислоты с непреобразованным циклодекстрином, вызывающим наибольший разрыв мембраны, и что монозамещенные производные алкилсульфоновой кислоты по настоящему изобретению вызывают такой же разрыв мембраны, что и гидроксипропил циклодекстриновое производное, что также установлено исследованием гемолиза красных кровяных клеток; на фиг. 4, 5 и 6 показано, что константы ассоциации для равновесия между сульфоалкил циклодекстриновыми производными по настоящему изобретению и дигоксином или прогестероном значительно больше, чем константа ассоциации для равновесия между гидроксипропил циклодекстриновым производным и дигоксином или прогестероном, соответственно; и на фиг. 7-10 также показано, что с фенитоином и тестостероном сульфоалкил циклодекстриновые производные по изобретению обладают значительно большими константами ассоциации по сравнению с гидроксипропил циклодекстриновым производным; на фиг. 11, 12 и 13 - результаты исследований растворимости тестостерона, прогестерона и напроксена с сульфоалкилэтиловыми циклодекстриновыми производными по настоящему изобретению.

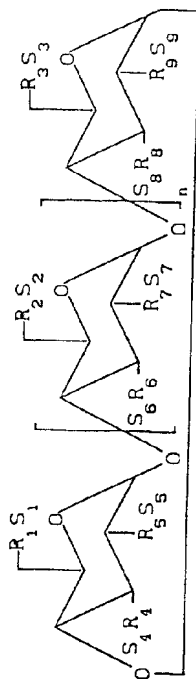
Итак, данное изобретение касается циклодекстриновых производных, подходящих для фармацевтического использования. Эти производные являются подходящими для использования в качестве образующих с лекарствами агентов для получения клатратных комплексов, которые используются в парентеральных и других фармацевтических препаратах. Способы получения и выделения циклодекстриновых производных также предусмотрены.

Циклодекстриновые производные по настоящему изобретению снабжены функциональными $(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3$ группами и являются, таким образом, заряженными частицами. Тот факт, что было найдено, что эти соединения обладают очень низким уровнем токсичности, является неожиданным в свете предыдущего уровня техники, полагающего, что производные циклодекстрина должны сохранять электронейтральность для поддержания отсутствия токсичности (Pitha, "Amorphous Water-Soluble" "Third Int'l Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems, Salt Lake City, Utah, Feb. 23-27, 1987).

Высокая растворимость в воде циклодекстриновых производных по настоящему изобретению и их результирующая низкая нефротоксичность являются дополнительными неочевидными результатами в свете патента US №4727064, описывающего, что для поддержания высокого уровня растворимости циклодекстриновых производных должна быть использована смесь производных.

Растворимость в воде, проявляемая настоящими сульфоалкил циклодекстриновыми производными кажется полученной благодаря сольватации частей сульфоновой кислоты. Таким образом, не требуется гетерогенной смеси настоящих циклодекстриновых производных для того, чтобы имела место наблюдаемая повышенная сольватация. Хотя смесь сульфоалкилэфирных производных может быть использована в соответствии с настоящим изобретением, такая смесь не требуется для повышения растворимости.

По предпочтительному осуществлению (1) циклодекстриновые производные по данному изобретению имеют структуры, представленные формулой (II):



где n является 4, 5 или 6;

$R_1 - R_9$ являются каждый независимо O^- или $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группой, где, по крайней мере, одна из R_1 и R_2 является независимо $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группой, предпочтительно $O-(CH_2)_m-SO_3^-$ группой, где m является от 2 до 6, предпочтительно от 2 до 4, (например, $OCH_2CH_2CH_2SO_3^-$ или $OCH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$);

$S_1 - S_9$ каждый, независимо, фактически приемлемый катион, который включает, например, H^+ , щелочные металлы (например, Li^+ , Na^+ , K^+), щелочноземельные металлы (например, Ca^{+2} , Mg^{+2}), ионы аммония и аминокатионы так же, как катионы C_1-C_6 -алкиламинов, пиперидина, пиразина, C_1-C_6 -алканоламина и C_4-C_8 -циклоалканоламина.

При другом предпочтительном осуществлении (2):

R_1 является $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группой, предпочтительно $O-(CH_2)_m-SO_3^-$ группой (например, $OCH_2CH_2CH_2SO_3^-$ или $OCH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$);

$R_2 - R_9$ являются O^- ;

$S_1 - S_9$ определены в осуществлении (1) выше.

При другом предпочтительном осуществлении (3):

R_1 , R_2 и R_3 является каждый независимо $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группой, предпочтительно $O-(CH_2)_m-SO_3^-$ группой, (например, $OCH_2CH_2CH_2SO_3^-$ или $OCH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$);

$R_4 - R_9$ являются O^- ; и

$S_1 - S_9$ определены в осуществлении (1) выше.

При другом предпочтительном осуществлении (4):

$R_1 - R_3$ определены в осуществлениях (2) и (3); выше по крайней мере, один из R_4 , R_6 и R_8 являются $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группой, преимущественно $O-(CH_2)_m-SO_3^-$ группой (например, $OCH_2CH_2CH_2SO_3^-$ или $OCH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$).

R_5 , R_6 и R_7 являются O^- ; и

$S_1 - S_9$ определены в осуществлении (1) выше.

При другом предпочтительном осуществлении (6):

$R_1 - R_6$ и R_8 каждый, независимо являются $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-O_3^-$ группой, предпочтительно $O-(CH_2)_m-SO_3^-$ группой (например, $OCH_2CH_2CH_2SO_3^-$ или $OCH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$);

R_5 , R_6 и R_7 являются O^- ; и

$S_1 - S_9$ определены в осуществлении (1) выше.

Термины "алкилен" и "алкил" в данном тексте (например, в $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ группе или в алкиламинах) включают как линейные, так и разветвленные, насыщенные и ненасыщенные (например, содержащие одну двойную связь) двухвалентные алкиленовые группы и моновалентные алкильные группы, соответственно. Термин "алканол" в данном тексте также включает как линейные, так и разветвленные, насыщенные и ненасыщенные алкилсоставляющие алканольных групп, в которых гидроксильные группы могут располагаться в любом положении алкильной части. Термин "циклоалканол" включает незамещенные или замещенные (например, метил или этил) циклические спирты.

Настоящее изобретение касается композиций, содержащих смесь производных циклодекстрина, имеющих структуру, представленную формулой (II), где композиция в целом содержит в среднем, по крайней мере, от 1 до 3 + 6 частей алкилсульфоновой кислоты на молекулу циклодекстрина. Настоящее изобретение также касается композиций, содержащих исключительно один или единственный тип производного циклодекстрина.

Настоящие производные циклодекстрина являются или замещенными, по крайней мере, по одной первичной гидроксильной группе (например, по крайней мере, у одного из R_1-R_3 имеется заместитель), или они замещены как по первичной гидроксильной группе в 3-м положении (например, как, по крайней мере, у одного из $R_1 - R_3$, так и, по крайней мере, у одного из R_4 , R_6 и R_8 имеется заместитель). Замещение по гидроксильной группе во 2-м положении, хотя теоретически и возможное, на основании исследований заявителя не кажется в действительности проявляющимся в продуктах по изобретению.

Производные циклодекстрина по настоящему изобретению получены в виде очищенных композиций, предпочтительно в виде композиций, содержащих, по крайней мере, 95 % по весу производного(ых) циклодекстрина с осуществленным замещением, по крайней мере, по первичной гидроксильной группе молекулы циклодекстрина (например, R_1 , R_2 или R_3 в формуле (II), как определено 1H ЯМР при 300 МГц). В предпочтительном осуществлении могут быть получены очищенные композиции, содержащие, по крайней мере, 98 % производного(ых) циклодекстрина.

Это отличается от описания патента US №3426011, в котором сообщается только о получении продуктов реакции взаимодействия циклодекстрина сультоновым реагентом. Эти продукты реакции - значительное количество незамещенного исходного циклодекстринового материала.

В данных предпочтительных композициях по изобретению непрореагировавший циклодекстрин в существенной степени удален, при остаточных примесях (например, ≤ 5 % по весу от веса композиции), не оказывающих влияния при получении содержащей циклодекстрипроизводное композиции.

Более высокозамещенные алкилсульфоновой кислотой производные циклодекстрина по настоящему изобретению, как было обнаружено, обладают, в дополнение к характеристикам повышенной растворимости и низкой токсичности, превосходным свойством вызывать меньший разрыв мембраны. При исследованиях гемолиза красных кровяных клеток более высокозамещенные циклодекстриновые производные демонстрируют незначительный разрыв мембраны. Монозамещенные циклодекстриновые производные вызывают почти такой же разрыв мембраны, как и гидроксипропилпроизводное.

Данные улучшенные показатели достигаются очищенными композициями по изобретению, которые содержат < 5 %, предпочтительно менее 2 %, непрореагировавшего β -циклодекстрина, и являются особенно важными для композиций, назначаемых пациенту для парентерального применения. Заявители, однако, обнаружили,

что композиции, содержащие несколько большие количества непрореагировавшего β -циклодекстрина, притом, что они не подходят для парентерального назначения, остаются полезными для орального назначения.

При внутривенном пути введения лекарства, включенного в циклодекстриновый препарат, тот не должен содержать β -циклодекстрин ввиду присущей последнему нефротоксичности. Внутривенно введенная доза получает доступ к почкам посредством пути циркуляции крови. Стоит β -циклодекстрину быть отфильтрованным клетками почки, как он проявляет нефротоксичность, вызванную разрывом клеточных мембран из-за удаления холестерина из клеточных мембран. Следовательно, существует незначительная толерантность к преобразованному циклодекстрину, содержащему остаточный β -циклодекстрин, если этот продукт используется в парентеральной форме.

В противоположность этому допущение остаточного β -циклодекстрина для препарата сульфоалкилэтерифицированного циклодекстрина, используемого в оральных формах, может быть большим. Оральная абсорбция β -циклодекстрина ограничена (если она вообще есть), и удаление β -циклодекстрина в "the feces" будет предотвращать какую-то ни было нефротоксичность. Однако уровень β -циклодекстрина, который может быть, допустим, в форме для орального применения будет зависеть от других характеристик материала, в частности, от присущей ему водной растворимости.

Таким образом, сульфоалкилэтерифицированные производные по настоящему изобретению могут быть использованы в форме для орального применения, даже если непрореагировавший β -циклодекстрин содержится в количестве до 50 %, хотя предпочтительное количество ограничено менее 40, а более предпочтительно менее 25 %.

Получение производных циклодекстрина (ЦД).

Описанные производные циклодекстрина могут быть получены, главным образом, растворением циклодекстрина в водном основании при подходящей температуре, например, от 70 до 80°C, при максимально высокой концентрации. Например, для получения производных циклодекстрина по осуществлению (4), количество происходящего алкилсульфона, соответствующее числу молей присутствующих первичных гидроксильных групп ЦД, добавляются при энергичном перемешивании для достижения максимального контактирования в гетерогенной фазе.

Для получения производных циклодекстрина по осуществлению (2) берут мольное количество алкилсульфона, соответствующее числу молей используемого ЦД. Как легко может определить специалист, для получения производных циклодекстрина по осуществлению (1), которые включают производные циклодекстрина как по осуществлению (4), так и по (2), количество алкилсульфона, при этом используемого, определено выше. Другие производные циклодекстрина, предусмотренные настоящим изобретением, получены *Mutatis Mutandis*.

Смесь подвергают взаимодействию до образования одной фазы, что указывает на израсходование алкилсульфона. Реакционную смесь разбавляют равным количеством воды и нейтрализуют кислотой, такой как соляной кислотой. Раствор затем подвергают диализу для удаления примесей с последующим концентрированием ультрафильтрацией.

Концентрированный раствор затем подвергают ион-обменной хроматографии для удаления непрореагировавшего циклодекстрина и далее сушат вымораживанием (лиофильная сушка) с получением желаемого продукта.

ЦД, используемый в настоящем изобретении, может быть любым ЦД, полученным известным способом, например, действием циклодекстрин-глюканотрансферазы (CG Tase, E.C., 2.4.1.19) на крахмал. Таким образом, ЦД здесь обозначает α -ЦД, в котором шесть глюкозных единиц связаны вместе по α -1,4-связи, β -ЦД, в котором семь глюкозных единиц связаны вместе, или γ -ЦД, в котором восемь глюкозных единиц связаны вместе, или их смесь. При этом использование β -ЦД наиболее предпочтительно для получения особенно преобразованных продуктов широкой полезности.

Как отмечается выше и в зависимости от требуемого производного циклодекстрина количество используемого в качестве агента преобразования сультона не может быть более одного мольного эквивалента относительно числа первичных гидроксильных групп, представленных в ЦД, хотя оптимальное количество может быть отчасти зависимым от концентрации реагента. В качестве ускорителя может быть использован гидроксид лития, гидроксид натрия и гидроксид калия. При этом гидроксид натрия является предпочтительным ввиду его низкой цены. Его количество должно быть больше, чем около 30 мольных эквивалентов и будет предпочтительным при уровне от 80 до 200 мольных эквивалентов при концентрации реагента на уровне выше, чем 10 % (в/в), предпочтительно уровня от 40 до 60 % (в/в).

В качестве реакционной среды может быть использован любой растворитель, который является по существу инертным по отношению к частичному алкилированию. Типичными примерами является вода, ДМФА, ДМСО и их смеси, но использование одной воды предпочтительно для облегчения последующей обработки.

Тип и концентрация алкилсультона и щелочи не являются существенными для реакции. Однако реакцию обычно проводят при перемешивании при температуре от 10 до 80°C в течение одного часа, предпочтительно от 20 до 50°C в течение от 5 до 20 ч.

Для выделения и очистки целевых соединений из реакционных смесей могут быть применены широко известные в данной области методы. Они включают экстракцию органическими растворителями, диализ, адсорбционную хроматографию с активированным углем, силикагелем, оксидом алюминия и другими адсорбентами, хроматографию с использованием в качестве носителя поперечно-связанного декстрина, стирол/дивинил-бензол сополимеров и других поперечносвязанных полимеров и их сочетание.

Получение клатратных комплексов.

Клатратные комплексы по изобретению могут быть получены любым известным в данной области способом получения комплексов циклодекстринов.

Например, для получения клатратных комплексов производное циклодекстрина растворяют в воде или органический смешивающийся с водой растворитель может быть добавлен к физиологически активному соединению (лекарству), растворенному в органическом растворителе, который смешивается с водой. После нагревания смеси желаемый продукт получают концентрированием смеси при пониженном давлении или оставляют охлаждаться. В этом случае отношение смешиваемых органического растворителя и воды может соответствующим образом варьироваться в соответствии с растворимостью материала и продуктов.

Примеры лекарств, которые могут входить в комплексы с производными циклодекстрина включают дифенил гидантоин, адифенин, аллобарбитал, аминокислоту, амобарбитал, ампициллин, анетол, аспирин, азопропазон, азулен барбитуровую кислоту, беклометазон, беклометазон дипропронат, бензциклан, банзальдегид, бензокаин, бензодиазепин, бензотиазид, бетаметазон, бетаметазон 17-валерат, бром-бензойную кислоту, бромизовалерилмочевину, бутил-п-аминобензоат, хлоральгидрат, хлорамбуцил, хлорамфеникол, хлорбензойную кислоту, хлорпромазин, коричную кислоту, хлорфибрат, коэнзим А, кортизон, кортизон ацетат, циклобарбитал, циклогексил антранилат, деоскихолевую кислоту, дексаметазон, дексаметазон ацетат, диазепам, дигитоксон, дигоксин, экстрадиол, фторфенамовую кислоту, фторхинолон ацетонид, 5-фторурацил, фторбипрофен, гризеофульфин, квазулен, гидрокортизон, гидрокортизон ацетат, ибупрофен, индиан, индометацин, иод, кетопрофен, антибиотики группы ланкацидина, мефенамовую кислоту, менадион, мефорбарбитал, метбарбитал, метициллин, метроиндазол, митомицин, нитразепам, нитроглицерин, нитрозомочевина, параметазон, фенециллин, фенобарбитал, фенобарбитон, пентобарбитал, фенилбутановую кислоту, фенилвалериановую кислоту, фенитоин, преднизолон, преднизолон ацетат, прогестерон, пропилпарабен, просциллардин, серии простагландина А, серии простагландина В, серии простагландина Е, серии простагландина F, хинолоновые антимикробные препараты, резерпин, спиронолактон,

сульфацетамид натрия, сульфонамид, тестостерон, талимодин, тиамин дилаурилсульфат, тиамфениолпальмитат, тиопентал, триамцинолон, витамин А, витамин D₃, витамин Е, витамин К₃ и варфарин.

Лекарство может быть растворено в воде или в органическом растворителе (как смешивающимся, так и не смешивающимся с водой). Подходящие растворители включают, например, диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, диоксан, ацетон, диметилсульфоксид, диметилформамид и низшие алифатические спирты. Предпочтительно лекарство растворено либо в воде, либо в смеси воды и смешивающегося с водой растворителя, такого как метанол или этанол. Лекарство также может быть суспендировано в воде.

После достижения равновесия комплекс может быть выделен любым приемлемым способом, например, лиофилизацией, упариванием растворителя, отделением осадка (высаживанием - пер.), низкотемпературной кристаллизацией или разбрызгивательной сушкой. Циклодекстриновые комплексы включения могут быть также получены физическим размолотом или замешиванием циклодекстрина в гостевой молекуле с или без небольшого количества растворителя.

Соотношение производного циклодекстрина и лекарства, используемого для приготовления клатратных комплексов по изобретению, может быть любым приемлемым соотношением, но подходящим является, когда производное циклодекстрина берется в мольном избытке.

Положительный эффект от изобретения может быть получен при мольном соотношении производного циклодекстрина к лекарству порядка от 10:1 до 1:10, предпочтительно от 2:1 до 5:1, например 3:1, и при использовании методов и соотношений, указанных выше. Комплексы легко получаются с содержанием вплоть до 20 % по весу лекарства. Однако, принимая во внимание низкие дозы обычно назначаемых лекарств и трудность приготовления гомогенных смесей активного ингредиента и наполнителей, возможно желательным является получение комплекса с избытком наличия производного циклодекстрина, например, комплексы, содержащие порядка от 0.1 до 10 % по весу лекарства, в частности, уровни от 0.5 до 0.2 % по весу.

Клатратные комплексы по изобретению обеспечивают более приемлемый путь введения лекарств, поскольку циклодекстрин действует только как солюбилизирующий агент, без влияния на терапевтическое поведение лекарства любым способом.

Композиция, содержащая клатратные комплексы по изобретению.

Таким образом, изобретение, кроме того, касается комплекса включения, как указано выше, для использования его в медицине или ветеринарии. Комплекс для использования в виде лекарства может быть представлен в виде фармацевтического препарата.

Далее, изобретение касается, с другой стороны, фармацевтического препарата, содержащего комплекс включения лекарства с циклодекстриновым производным и фармацевтически приемлемый носитель и необязательно другие терапевтические и/или профилактические ингредиенты. Носители должны быть "приемлемыми" в смысле совместимости с другими ингредиентами препарата и не быть опасными для реципиента. Удобно, чтобы фармацевтический препарат был в единично дозированной форме. Каждая единичная доза будет подходящим образом содержать количество лекарства, обычно включенного в единичную дозу такого лекарства в отсутствие циклодекстрина. Фармацевтически препаратами могут быть любые препараты, в виде которых могут использоваться для лечения комплексы включения, и содержат препараты, подходящие для орального, внутриносового, внутриглазного или парентерального (включая внутримышечное и внутривенное) применения. Препараты могут быть в зависимости от назначения представлены удобно в дробных дозированных единицах и могут быть получены любым из способов, хорошо известных специалистам в области фармации. Все способы включают стадию объединения активного соединения с жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями или с обоими и затем, если необходимо, формирование продукта в желаемый препарат.

Фармацевтические препараты, подходящие для орального применения, в которых носитель - твердое вещество, в большинстве случаев представлены в виде единично дозированных препаратов, таких как пилюли, капсулы, каше или таблетки, каждый из которых содержит определенное количество активного ингредиента. Таблетки могут быть получены прессованием или формованием, необязательно с одним или более удобным ингредиентом. Прессованные таблетки могут быть получены прессованием на соответствующей машине активного соединения в свободнотекущем виде, таком как порошок или гранулы, необязательно смешанном со связующим, смазкой, инертным разбавителем, смазывающим, поверхностно-активным или диспергирующим агентом, формованные таблетки могут быть получены формованием инертного жидкого разбавителя. Таблетки могут быть необязательно покрыты и, если не покрыты, могут быть необязательно помечены. Капсулы могут быть получены наполнением активным соединением, либо один, либо в смеси с одним или более удобным ингредиентами, капсульных емкостей и затем запечатыванием их обычным методом. Каше и подобные наполняют активным ингредиентом вместе с любым удобным(ми) ингредиентом(ами) и запечатывают в оболочку из рисовой бумаги.

Таблетки содержат активный ингредиент в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми наполнителями, которые подходят для приготовления таблеток. Этими добавками могут быть, например, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия, лактоза, фосфат кальция или фосфат натрия; гранулирующие или разрыхляющие агенты, например, маисовый крахмал, или альгиновая кислота; связывающие агенты, например крахмал, желатин или асасия, или смазывающие агенты, например, стеарат магния, стеариновая кислота или тальк. Таблетки могут быть непокрыты, или они могут быть покрыты известными способами для задерживания разрушения и абсорбции в желудочно-кишечном тракте и таким образом обеспечения поддержания действия в течение длительного периода. Например, может быть использован задерживающий во времени материал, такой, как глицерин моностеарат или глицерин дистеарат, индивидуально или с воском.

Настоящее изобретение также охватывает комплексы по настоящему изобретению в фармацевтических препаратах, проявляющих задерживаемое (продолгованное) высвобождение лекарства. Фармацевтические препараты, проявляющие задерживание освобождения лекарства вообще известны. Такие препараты включают инертные полимеры или биоразрушающиеся поликислоты, в которых активный ингредиент (настоящий комплекс) либо диспергирован, ковалентно связанный по подвижным связям, либо помещен в полость между полимерными мембранами. Задерживаемое высвобождение достигается путем диффузии активного ингредиента через полимерную матрицу или гидролизом каких-то имеющихся ковалентных связей.

Замедленное освобождение может быть также представлено освобождением активного ингредиента с помощью осмотических насосов. Осмотические насосы содержат резервуар с раствором или суспензией активного ингредиента (например, настоящий комплекс), окруженный полупроницаемой мембраной, содержащий проход для лекарства. По мере того, как вода проникает сквозь полупроницаемую мембрану, раствор комплекса выталкивается через проход и высвобождается.

Производные циклодекстрина по изобретению действуют как лекарственные солюбилизирующие агенты в данной системе. Настоящие производные циклодекстрина могут также действовать как осмотические управляемые агенты, обеспечивающие возможность для наполнения водой такой системы.

Фармацевтические препараты, подходящие для орального применения, в которых носителем является жидкость, могут быть удобно представлены в виде раствора в водной или неводной жидкости или в виде масло-в-воде или вода-в-масле жидкой эмульсии. Фармацевтические препараты для парентерального применения удобно представлены в

виде контейнеров с единичной дозой или с мульти-дозой, которые запечатаны после введения препаратной единицы, требуемой для применения.

Препараты для орального использования могут быть также представлены в виде твердых желатиновых капсул, где активный ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, например, карбонатом кальция, фосфатом кальция или каолином, или в виде мягких желатиновых капсул, где активный ингредиент смешан с водой или масляной средой, например, арахисовым маслом, маслом земляного ореха, жидким парафином или оливковым маслом.

Необходимо учесть, что в дополнение к вышеупомянутым несущим ингредиентам фармацевтические препараты, указанные выше, могут содержать, в количестве подходящего один или более дополнительных ингредиентов носителей, таких как разбавители, буферизирующие агенты, ароматизирующие агенты, связующие, поверхностно-активные агенты, загустители, смазки, предохраняющие агенты (включая антиоксиданты) и подобные, и вещества, включенные с целью поддержания изотоничности препарата в крови реципиента, которому они предназначены.

Для этих целей соединения по настоящему изобретению могут быть назначены орально, местно, интраназально, внутриглазным способом, парентерально, ингаляционным опрыскиванием или ректально в виде препаратов с дозированными единицами, содержащих нетоксичные фармацевтически приемлемые носители, добавки и растворители. Термин парентеральный, используемый здесь, включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, внутрижелудочные инъекции или методы влияния. Помимо применения для лечения теплокровных животных, таких как мыши, крысы, лошади, собаки, коты и т.д., соединения по изобретению эффективны и на людях.

Водные суспензии содержат активные материалы в смеси с добавками, подходящими для приготовления водных суспензий. Такие добавки являются суспендирующими агентами, например, натрий карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, смола трагаканта и смола акации диспергирующими или смачивающими агентами могут быть встречающиеся в природе фосфатиды, например, лецитин, или продукты конденсации алкиленоксида с жирными кислотами, например, полиоксиэтиленстеарат, или продукты конденсации этиленоксида с длинноцепочечными алифатическими спиртами, например, гепта декаэтиленоксидэтанол, или продукты конденсации этиленоксида с частичными эфирами, производными жирных кислот и гекситола, такие как полиоксиэтиленсорбитол моно-олеат, или продукты конденсации этиленоксида с частичными эфирами, производными жирных кислот и ангидридов гекситола, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат. Водные суспензии могут также содержать один или более защитных агентов, например, этил или н-пропил п-гидроксibenзоат, один или более окрашивающих агентов, один или более ароматизирующих агентов и один или более подслащивающих агентов, таких как сахароза или сахарин.

Масляные суспензии могут быть получены суспендированием активного ингредиента в растительном масле, арахисовом масле, оливковом масле, кунжутном масле, кокосовом масле, или в минеральном масле, таком как жидкий парафин. Масляная суспензия может содержать сгущающий агент, например, пчелиный воск, тяжелый парафин или цетиловый спирт. Подслащивающие агенты, такие как указаны выше, и ароматизирующие агенты обеспечивают вкусные оральные препараты. Эти композиции могут быть защищены добавлением антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота.

Диспергирующиеся порошки и гранулы, подходящие для приготовления водой суспензии при добавлении воды, содержат активный ингредиент в смеси с диспергирующим или смачивающим агентом, суспендирующим агентом и одним или более защитным агентом. Подходящие диспергирующие или смачивающие агенты и суспендирующие агенты могут быть проиллюстрированы, как уже указано выше. Дополнительные

добавки, как например, подслащивающие, ароматизирующие или подкрашивающие агенты, также могут быть представлены.

Фармацевтические композиции по изобретению могут также быть в виде эмульсий масло-в-воде. Масляная фаза может быть растительным маслом, например, оливковым маслом или арахисовым маслом, или минеральным маслом, например, жидким парафином, или их смесями. Подходящими эмульгирующими агентами могут быть встречающиеся в природе смолы, например, смола акации или смола трагаканта, встречающиеся в природе фосфатиды, например, лецитин соевых бобов, и эфиры или частичные эфиры, производные жирных кислот и ангидридов гекситола, например, сорбитан моноолеат, и продукты конденсации указанных эфиров с этиленоксидом, например, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат. Эмульсии могут также содержать подслащивающие и ароматизирующие агенты.

Сиропы и эликсиры могут быть составлены с подслащивающими агентами, например, глицеролом, сорбитолом или сахарозой. Такие препараты могут также содержать *demulcent*, защитные и ароматизирующие и подкрашивающие агенты, фармацевтические компоненты композиции могут быть в форме стерильных препаратов для инъекции, например, в виде стерильных водных или масляных суспензий для инъекций. Такая суспензия может быть составлена согласно известным методам с использованием таких подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были упомянуты выше. Стерильные препараты для инъекций могут быть также стерильным для инъекций раствором или суспензией в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе. Среди приемлемых разбавителей и растворителей, которые могут быть использованы, вода, раствор Ринглера и изотонический раствор хлорида натрия. В дополнение стерильные определенные масла являются удобно применимыми в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для этих целей любые мягкие определенные масла могут быть использованы, включая синтетические моно- или диглицериды. К тому же жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, находят применение в препаратах, пригодных для инъекции.

Соединения по данному изобретению могут быть также назначены в форме суппозиторий для ректального применения лекарства. Эти композиции могут быть получены смешиванием лекарства с подходящим нераздражающим носителем, который является твердым при обычной температуре, но жидким при ректальной температуре, и который поэтому будет плавиться в области ректума с высвобождением лекарства. Таким материалом являются масло какао и полиэтиленгликоли.

Для местного применения используют крема, растирки, желе, растворы или суспензии и т.д., содержащие активный ингредиент.

Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с несущими материалами для получения единичной дозированной формы, будет изменяться в зависимости от обработанной гостевой молекулы и особого способа введения. Например, препарат, предназначенный для орального применения на человеке, может содержать от 1.0 до 750 мг активного агента, соединенным с подходящим и удобным количеством материала носителя, которое может варьироваться от 5 до 95 процентов от веса всей композиции. Единичные дозированные формы будут главным образом содержать между от 1 до 500 мг активного ингредиента.

Назначение клатратных комплексов пациенту.

Необходимо учесть, что специфичный уровень дозы для любого частного пациента будет зависеть от различных факторов, включая активность используемого специфичного соединения, возраста, веса тела, общего состояния здоровья, пола, питания, времени применения, пути введения, скорости выделения, комбинации лекарств и степень заболевания, которое подлежит лечению.

Фармацевтические препараты, содержащие комплексы включения, могут быть назначены на уровнях дозировки и при интервалах доз, требуемых для достижения требу-

емого фармакологического ответа, которые обычно такие же, что и для лекарства и состояния заболевания, как и в отсутствии циклодекстрина.

Другие особенности изобретения проявятся в последующем описании примеров осуществления, которые даны для иллюстрации изобретения и которые не предполагают его ограничение.

Примеры.

Гидроксипропилпроизводное циклодекстрина, используемое в экспериментах, представленных ниже, закуплено в Pharmatec, Inc., Alachua, Fl.

Получение производного циклодекстрина по изобретению.

Пример 1. Моносульфобутиловый эфир β -циклодекстрина.

В 100 мл круглодонной колбе 10 г β -циклодекстрина ($8.81 \cdot 10^{-3}$ моль) добавляют к водному раствору, состоящему из 30 мл воды и 5.0 г гидроксида натрия, при перемешивании и выдерживая при 70°C. К этому раствору медленно добавляют 1.8 мл (2.40 г, $1.76 \cdot 10^{-2}$ моль) бутан сультона при энергичном перемешивании для достижения максимального контакта гетерогенных фаз.

После того, как наблюдается однородная фаза, что свидетельствует о полном израсходовании алкилсультона, раствор охлаждают до комнатной температуры и разбавляют 20 мл воды. Полученный раствор нейтрализуют 1 н соляной кислотой и диализуют 3 • 700 мл воды для удаления солей и гидроксипропилсульфоновых кислот, образующихся как побочные продукты.

Диализат концентрируют ультрафильтрацией и помещают в ион-обменную колонку, содержащую 50 г A-25 DEAE-Sephadex, помещенного в 1.25 дюймового диаметра стеклянную колонку. Непрореагировавший β -циклодекстрин удаляется элюированием с дистиллированной водой. Монозамещенный сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина выделяют элюированием с 0.1 н гидроксида натрия. Вытекающая фракция, содержащая монозамещенное производное ультрафильтруется для удаления любых оставшихся солей. рН остатка устанавливают нейтральным и лиофилизируют с получением 2.17 г монозамещенного сульфобутилового эфира β -циклодекстрина в виде белого аморфного вещества. Элементный анализ продукта показывает соотношение углерода и серы, равным 13.7, что соответствует Ca 1.2 замещению на молекулу.

Пример 2. Моносульфопропиловый эфир β -циклодекстрина.

Методы примера 1 повторяют, заменив 1.54 мл (2.15 г, $1.76 \cdot 10^{-2}$ моль) пропансультоном бутансультон с получением 1.97 г моносульфопропилового эфира β -циклодекстрина в виде белого аморфного твердого продукта. Элементный анализ показывает, что отношение углерода к сере составляет 12.1, что соответствует Ca. 1.4 замещением на молекулу.

Пример 3. Сульфобутиловые эфиры β -циклодекстрина.

В 50 мл круглодонной колбе 5 г β -циклодекстрина ($4.41 \cdot 10^{-3}$ моль) добавляют при перемешивании к водному раствору, содержащему 10 мл воды и 2.0 г гидроксида натрия при 70°C. К этому раствору медленно добавляют 4.5 мл (6.0 г, $4.41 \cdot 10^{-2}$ моль) бутансультона при энергичном перемешивании для обеспечения максимального контакта гетерогенных фаз. После, образования единой фазы, свидетельствующей об израсходовании алкилсультона, раствор охлаждают до комнатной температуры и разбавляют 20 мл воды. Полученный раствор нейтрализуют 1 н соляной кислотой и диализуют 3 х 700 мл воды для удаления остатков солей и гидроксипропилсульфоновых кислот, образующихся как побочные продукты. Диализат концентрируют ультрафильтрацией и устанавливают рН остатка нейтральным и лиофилизируют с получением сульфобутилового эфира циклодекстрина в виде белого аморфного твердого вещества. Элементный анализ продукта показывает, что отношение углерода к сере составляет 3.73, что соответствует Ca. 7 замещения на молекулу. Тонкослойная хроматография продукта (2-бутанон:метанол:вода, 4:4:2) показывает отсутствие непрореагировавшего β -циклодекстрина.

Пример 4. Дополнительные сульфалкилэфиры циклодекстрина.

Методы примера 3 варьировали в зависимости от реагентов и мольных соотношений с получением производных циклодекстрина с различной степенью замещения. Представленные результаты следующие (см. табл. 1).

Пример 5. Комплекс прогестерона с производным СД (ЦД).

(220 мг, 0.10 ммоль) сульфобутилового эфира β -циклодекстрина из табл. 8, содержащего 25 % дериватизированного β -циклодекстрина, (СБЭ7- β -ЦД/25 %) растворяют в 1 мл воды с получением 0.1 мольного раствора циклодекстрина. К этому раствору добавляют (54 мг, 0.17 ммоль) тонкоизмельченного прогестерона, и полученную суспензию облучают ультразвуком в течение 24 - 48 ч. Водную суспензию отфильтровывают и фильтрат содержит комплекс прогестерон : циклодекстрин (пример 18 мг прогестерона/мл раствора), который используется как есть или после выделения в виде твердого вещества путем сушки посредством вакуумного выпаривания, распылительной сушки или лиофилизации.

Пример 6. Способ комплексообразования "твердая фаза в раствор".

(28 мг, 0.08 ммоль) гидрокортизона и (220 мг, 0.10 ммоль) СБЭ7- β -ЦД/ 25 % измельчают в ступке пестиком для увеличения поверхности частиц и чтобы диспергировать гетерогенные частицы. Твердую смесь переносят в 1-мл-литровый "волюметрический" контейнер с достаточным объемом, чтобы была возможность "встряхивания" твердого вещества в растворе. Добавляют каплю или две воды (или "водного растворителя"), чтобы создать очень концентрированный циклодекстриновый раствор с минимальными водными свойствами и максимальную возможность для гидрофобного лекарственного препарата найти полость ЦД. Раствор/суспензию нагревают и облучают ультразвуком до тех пор, пока гидрокортизон не растворится. Добавляют дополнительно воду (или "водный растворитель") до объема, в общем равного 1 мл.

"Водный растворитель". В идеале единственным добавленным растворителем должна быть вода, однако, в зависимости от свойств лекарственного вещества, может быть использован буфер. Для лекарственных веществ, которые чрезвычайно плохо растворимы в воде возможно нужно, чтобы первые одна или две капли были этанолом или ДМСО, но более предпочтительно, водным раствором этанола или раствором ДМСО с как можно меньшим количеством органического растворителя (т.е. 50.50 EtOH, вода).

Водный раствор фильтруют и фильтрат содержит комплекс гидрокортизон : циклодекстрин, который используется как есть, или его выделяют в виде твердого вещества путем сушки с помощью вакуумного выпаривания, распылительной сушки или лиофилизации.

Пример 7. Способ получения комплекса "твердое вещество - твердое вещество".

(7.8 г, 0.01 моля) диоксина и (220 г, 0.10 моля) СБЭ7- β -ЦД/25 % перемешивали, используя вибрационную мельницу до тех пор, пока исследование с помощью твердофазного ЯМР не показывали, что образовался комплекс.

Пример 8. Получение дополнительных циклодекстриновых производных.

Реагенты.

Раствор β -ЦД. 1.38 г NaOH растворяли в 15 мл воды. К этому щелочному раствору добавляли 11.33 г β -ЦД (11.8 % вода). Смесь нагревали до тех пор, пока весь β -ЦД растворится. β -ЦД оставался в растворе, когда смесь охлаждали до комнатной температуры.

Раствор сультона.

3.51 г NaOH растворили в 10 мл воды и в этот щелочной раствор добавляли 6.01 г бутансультона.

Реакция.

Водную смесь сультона: NaOH помещали в 100 мл 3-горлую колбу с круглым дном. Колбу снабжали конденсатором (холодильником), термометром и дополнительным отверстием для ввода. Реакционную систему помещали в водяную баню с комнатной

температурой и температуру бани повышали до 70°C в течение 110 мин. Затем по каплям в течение 2 ч добавляли раствор β -ЦД и давали прореагировать в течение дополнительных 30 мин. В конце реакции pH реакционной смеси был равен 13.5. Раствор нейтрализовали до pH 7 с помощью 1N HCl.

Доработка.

Нейтрализованную реакционную смесь разбавляли водой и подвергали ультрафильтрации через мембрану, отделяющую компоненты с молекулярным весом 500, чтобы удалить NaCl и гидролизованные побочные продукты сультона. Оставшийся удержанный материал содержит смесь СБЭ-производных циклодекстринов и непрореагировавшего β -ЦД. Анализ с помощью капиллярного электрофореза показывает, что продукт содержит 40 % β -ЦД и 60 % СБЭ-ЦД производных, состоящих из СБЭ1- β -ЦД, СБЭ2- β -ЦД, СБЭ3- β -ЦД, СБЭ4- β -ЦД, СБЭ5- β -ЦД, СБЭ6- β -ЦД, СБЭ7- β -ЦД, СБЭ8- β -ЦД. Средняя степень замещения (DS) СБЭ-ЦД части продукта в виде смеси представляет DS примерно 4.1.

Условия реакции (когда все реагенты уже смешаны) заключаются в процентных концентрациях и молярных соотношениях, которые сравнимы с условиями, описанными в вышеприведенных примерах, но они отличаются от условий, описанных в патенте US №3453257 (принадлежащего Parmerter). DS конечного продукта СБЭ равна примерно 4.1, что сравнимо с таковой полученной для материала, полученного в вышеприведенных примерах, однако распределение по группам СБЭ-ЦД различно (см. табл. 2).

Пример 9. Способ комплексообразования путем равновесной растворимости.

(220 мг, 0.10 ммоль) сульфобутилового эфира β -циклодекстрина из примера 8, содержащего 40 % непреобразованного β -циклодекстрина (СБЭ7- β -ЦД/ 40 %) растворяют в 1 мл воды с получением 0.1 молярного раствора циклодекстрина. К этому раствору добавляют (54 мг, 0.17 ммоль) тонко измельченного прогестерона и полученную суспензию обрабатывают ультразвуком в течение 24-48 ч. Водную суспензию фильтруют, фильтрат содержит комплекс прогестерон : циклодекстрин (примерно 18 мг прогестерона/мл раствора), который используется как есть, или выделяется в виде твердого вещества путем высушивания с помощью вакуумного выпаривания, распылительной сушки или лиофилизации.

Пример 10. Способ комплексообразования "твердая фаза к раствору".

(28 мг, 0.08 ммоль) гидрокортизона и (220 мг, 0.10 ммоль) СБЭ7- β -ЦД/ 40 % измельчают с помощью ступки и пестика для увеличения площади поверхности частиц и диспергирования гетерогенных частиц. Твердую смесь переносят в 1-миллилитровый "волюмометрический" контейнер с достаточным пространством для того, чтобы была возможность "встряхивания" твердого вещества в растворе. Добавляют каплю или две воды (или "водного растворителя") для создания очень концентрированного циклодекстринового раствора с минимальными водными свойствами и максимальной возможностью для гидрофобного лекарственного средства найти полость ЦД. Раствор/суспензию нагревают и обрабатывают ультразвуком до тех пор, пока гидрокортизон растворится. Добавляют дополнительно воду (или "водный растворитель") до объема всего 1 мл.

Водный раствор фильтруют и фильтрат содержит комплекс гидрокортизона : циклодекстрина, который используется как есть, или выделяется в виде твердого вещества путем сушки с помощью вакуумного выпаривания, распылительной сушки или лиофилизации.

Пример 11. Способ комплексообразования "твердое вещество - твердое вещество".

(7.8 г, 0.01 моля) диоксина и (220 г, 0.10 моля) СБЭ7- β -ЦД/40 % смешивают, используя вибрационную мельницу, до тех пор пока исследования с помощью твердофазного ЯМР не покажут, что образовался комплекс.

Кумулятивное выделение циклодекстрина с мочой.

Данные, касающиеся группы, представленные на фиг. 1, свидетельствуют, что, хотя производные сульфоалкил циклодекстрина по изобретению, также как и гидроксипропильное производное, выделяются у мышей быстрее и в большей степени, чем исходное соединение, настоящие производные выделяются наиболее быстро. Фиг. 1 касается данных для непреобразованного циклодекстринового соединения, гидроксипропил производного, сульфобутилпроизводного по изобретению и сульфопропил производного по изобретению.

Острая парентеральная токсичность.

Сульфоалкил производные циклодекстрина по изобретению не проявили наблюдаемое токсическое действие на самцах мышей в течение свыше 30 дней после внутрибрюшного введения $5.49 \cdot 10^{-3}$ моль/кг.

Эта доза эквивалента 7.1 г/кг для моноссульфоалкильных производных, 12.3 г/кг для сульфобутильного производного W/7 степеней замещения и 11.8 г/кг для сульфопропильного производного W/7 степеней замещения.

Азот мочевины плазмы.

Уровни азота мочевины плазмы являются индикаторами функционирования почек, при том, что повышение уровня свидетельствует о почечном заболевании. Данные табл. 3 свидетельствуют, что сульфоалкильные производные циклодекстрина по изобретению не вызывают повышения уровней азота мочевины плазмы у мышей по сравнению с непреобразованным исходным соединением (контроль). Однако отсутствует статистическое различие между нашими производными и гидроксипропильным производным.

Гемолиз красных кровяных клеток.

Как видно из данных фиг. 2 и 3 более высокозамещенные производные алкилсульфоновой кислоты по изобретению вызывают меньший разрыв мембраны, как показывает процент гемолиза, чем монозамещенные производные. Монозамещенные производные вызывают почти такой же разрыв мембраны, что и гидроксипропил производное.

Проявление фазовой растворимости.

Как видно из табл. 4 и данных, представленных ниже на фиг. 4a и 4b, контакты ассоциации для равновесия между сульфобутил производными по изобретению и дигоксином в пять раз больше, чем для гидроксипропил производного.

Необходимо отметить, что ось x на графиках фиг. 4a и 4b имеет максимум при примерно 1.8 % по весу циклодекстрина. Если рассматривать относительную растворяющую способность настоящих производных по отношению к гидроксипропилпроизводному (при 50 % растворах, как дано в патенте US №4727064, табл. 1), то кажущаяся растворимость дигоксина составляет примерно 216 мг/мл для настоящего сульфобутил производного по сравнению с примерно 80 мг/мл для гидроксипропил-производного. Значение 45.0 мг/мл, указанное в патенте US, дано для гидроксипропил-производного с отличающейся степенью значения от гидроксилпроизводного, используемого здесь для сравнения.

Похожие результаты можно видеть для прогестерона (см. табл. 5 и фиг. 5 и 6), фенитоина (см. табл. 6 и фиг. 7 и 8) и тестостерона (см. табл. 7 и фиг. 9 и 10).

Исследования оральных препаратов.

Как обсуждалось выше, оральные препараты могут допускать более высокое содержание β -циклодекстрина без ухудшения токсических показателей. Применяемые допустимые уровни β -циклодекстрина, однако, зависят от надлежащего баланса других характеристик, включая особенно присущую водную растворимость.

Максимум водной растворимости любого модифицированного циклодекстрина определяет границы его использования в растворяющих лекарстве субстанциях. Чем выше водная растворимость, тем больше возможность применения циклодекстрина при достаточно высоких концентрациях для растворения всей лекарственной субстанции с образованием комплекса включения. Таблица 6 показывает результаты сравнения водной растворимости различных сульфоалкил производных, полученных по настоящему изобретению.

ретению, с установленным содержанием от < 0.7 до 25 % по весу остаточного β -циклодекстрина с водной растворимостью производных, полученных по способу, описанному в патенте US №3426011 Parmerter, которые содержат 62 - 82 % по весу остаточного β -циклодекстрина.

Результаты табл. 6 показывают, что в то время, как концентрация остаточного содержания β -циклодекстрина увеличивается от < 1 % по весу до 25 % по весу, водная растворимость уменьшается. Однако, даже при содержании 25 % по весу остаточного β -циклодекстрина смесь сульфоаклил эфирных производных проявляет растворимость в воде 84 и 94 мг/мл для сульфопропил и сульфобутил эфирных производных, соответственно. Это означает, что препарат по настоящему изобретению, содержащий даже так много, как 25 % по весу β -циклодекстрина, проявляет водную растворимость в 1.5-2 раза больше, чем соответствующие препараты Parmerter.

На фиг. 11 - 13 графически показаны характеристики растворимости некоторых лекарств с производными по настоящему изобретению, содержащие различное количество β -циклодекстрина. На фиг. 11 и 12 показаны результаты исследований растворимости двух различных лекарств, тестостерона и прогестерона, соответственно. На обоих рисунках характеристики растворимости представлены для сульфобутил и сульфопропил эфирных производных по настоящему изобретению, содержащих различное количество β -циклодекстрина и, кроме того, представлены сульфопропилэфирные сульфобутилэфирные производные по Parmerter. Результаты обоих исследований показывают, что производные по настоящему изобретению проявляют намного более высокую растворимость по сравнению с производными Parmerter. Даже композиция, содержащая сульфобутил эфирное производное по настоящему изобретению с 50 % β -циклодекстрина, все еще показывает намного более высокую растворимость по сравнению с композициями Parmerter. Результаты также показывают, однако, скорее существенное понижение растворимости после повышения количества β -циклодекстрина выше 50 %.

Фиг. 13 представляет собой характеристики растворимости напроксена для композиций сульфобутил-эфирных производных по изобретению с различными количествами β -циклодекстрина. Это исследование неожиданно показало, что растворимость напроксена была не такой высокой, как у тестостерона и прогестерона при низких уровнях β -циклодекстрина, но также растворимость лекарства не казалась значительно понижающейся при повышении количества β -циклодекстрина. Тем не менее, результаты фиг. 11 и 12 показывают, что растворимость некоторых лекарств не понижается с повышением количества β -циклодекстрина. Для таких лекарств композиции с сульфоалкил-эфирными производными циклодекстрина обеспечивают прекрасную лекарственную растворимость даже при 40 - 50 % β -циклодекстрина.

Очевидно, множество модификаций и вариаций настоящего изобретения в свете вышеописанных методов. Необходимо далее отметить, что без ограничений прилагаемой формулы изобретения изобретение может найти более широкое практическое приложение, чем описано здесь.

Таблица 1

Цикло-декстрин	Моли	Сультон	Моли	Отношение углерод/сера	Замещения
β -.....	4.41×10^{-3}	пропан	4.4×10^{-2}	3.287.2
β -.....	4.41×10^{-3}	пропан	2.2×10^{-2}	5.533.6
β -.....	4.41×10^{-3}	бутан	2.2×10^{-2}	4.834.7
γ -.....	1.54×10^{-3}	пропан	7.71×10^{-3}	*3.5
γ -.....	1.54×10^{-3}	бутан	7.71×10^{-3}	*3.2

* Замещение определено по площадям пиков ^1H -ЯМР спектра.

Таблица 2

Сравнение концентраций и соотношений реагентов для синтеза СБЭ-б-ЦД
Патент США 3426011 в сравнении с примерами

Условие реакции	Пример 5	Parmerter
% β -ЦД (вес/объем)	40	100*
% NaOH (вес/объем)	20	50
Молярное отношение		
NaOH: β -ЦД	14:1	23:1
Сультон: β -ЦД	5:1	8:1

* β -ЦД не растворяли, но флотировали в виде твердого вещества, суспендированного в двухфазной смеси жидкостей, где 100 г было суспендировано в 100 мл воды.

Таблица 3

Азот мочевины плазмы ⁽¹⁾

Условие реакции	Время образца Р (час)	UN+S.D. (мг/дл) ⁽²⁾
Контроль (обычный солевой раствор)	24	15.88 \pm 1.21
β -циклодекстрин	24	160.10 \pm 26.16
Молекулсол TM	24	15.43 \pm 1.50
(гидроксипропил производное)		
Сульфопропиловый эфир		
β -циклодекстрина	24	15.27 \pm 0.71
(3.6 заместителей на молекулу ЦД)		
Сульфобутиловый эфир		
β -циклодекстрина	24	14.42 \pm 0.46
(4.7 заместителей на молекулу ЦД)		

(2) SIGMA Urea Nitrogen Procedure №640-A

(2) n = 4.

Таблица 4

Константы ассоциации дигоксина

	$K_{1:1}(\text{M}^{-1})$
β -циклодекстрин	2.82 $\times 10^4$
Молекулсол (гидроксипропил- β -С)	4.90 $\times 10^3$
Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.) ⁽¹⁾	2.76 $\times 10^4$
(4.8 зам.)	1.71 $\times 10^4$
(7 зам.)	6.88 $\times 10^3$
Сульфопропиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.)	2.74 $\times 10^4$
(3.6 зам.)	1.41 $\times 10^4$

(7 зам.)	5.29×10^3
----------	--------------------

⁽¹⁾ Число заместителей на молекулу ЦД.

Таблица 5

Константы ассоциации прогестерона

	$K_{1:1}(M^{-1})$
β -циклодекстрин	-
Молекулосол (гидроксипропил- β -CD)	1.12×10^4
Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.) ⁽¹⁾	1.72×10^4
(4.8 зам.)	1.57×10^4
(7 зам.)	1.83×10^4
Сульфопропиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.)	1.66×10^4
(3.6 зам.)	1.19×10^4
(7 зам.)	7.68×10^3

⁽¹⁾ Число заместителей на молекулу ЦД.

Таблица 6

Константы ассоциации фенитоина

	$K_{1:1}(M^{-1})$
β -циклодекстрин	1.51×10^3
Молекулосол (гидроксипропил- β -ЦД)	1.07×10^3
(1 зам.) ⁽¹⁾	1.22×10^3
Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	
(4.7 зам.)	1.26×10^3
(7 зам.)	7.56×10^3
Сульфопропиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.)	1.03×10^3
(3.6 зам.)	1.31×10^3
(7 зам.)	8.24×10^2

⁽¹⁾ Число заместителей на молекулу ЦД.

Таблица 7

Константы ассоциации тестостерона

	$K_{1:1}(M^{-1})$
β -циклодекстрин	1.78×10^4
Молекулосол (гидроксипропил- β -ЦД)	1.16×10^4
(1 зам.) ⁽¹⁾	1.64×10^4
Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина	
(4.7 зам.)	1.82×10^4
(7 зам.)	2.25×10^4
Сульфопропиловый эфир β -циклодекстрина	
(1 зам.)	1.87×10^4
(3.6 зам.)	1.43×10^4
(7 зам.)	9.63×10^3

⁽¹⁾ Число заместителей на молекулу ЦД.

Таблица 8

Действие содержания β -ЦД на водную растворимость сравнение различных циклодекстриновых препаратов

Циклодекстрин	Содержание β -ЦД (по весу) (КЗЭ)*	Водная растворимость (мг/мл)
β -Циклодекстрин	100	19
Сульфопропил-эфирные производные DAD-6-34	69	45
Настоящее изобретение DAD-6-40 + β -ЦД**	25	84
DAD-6-39-F***	7	> 700
DAD-6-40-F***	8	> 700
DAD-6-39-12****	< 0.7	> 700
Сульфобутил-эфирные производные DAD-1-137	82	39

Продолжение таблицы 7

Настоящее изобретение DAD-6-17 + β -ЦД**	25	94
DAD	< 2	> 800
DAD	< 2	> 800
DAD	< 2	> 800

* Капиллярная зона электрофореза

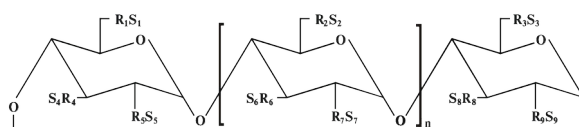
** Rajewski / Stella препарат, содержащий β -циклодекстрин

*** Rajewski / Stella препарат перед хроматографией

**** Rajewski / Stella препарат после хроматографии.

Формула изобретения

1. Очищенные производные сульфоалкильных эфиров циклодекстрина или их смесь, где производные циклодекстрина представлены общей формулой



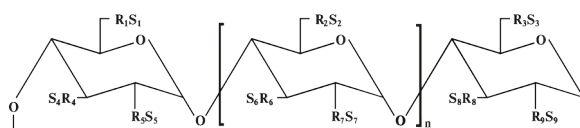
где $n=4, 5$ или 6 ;

R_1 - R_9 каждый независимо - O^- или $O(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группой и, по меньшей мере, один из R_1 и R_2 независимо - указанная $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа; S_1 - S_9 - каждый независимо фармацевтически приемлемый катион, указанные производные содержат в среднем примерно $1-(3n+6)C_2-C_6$ -сульфоалкильных групп на 1 молекулу циклодекстрина, а содержание недериватизированного циклодекстрина в указанной смеси превышает 5, но менее 50 мас. %.

2. Производные по п. 1, где каждый R_1 , R_2 и R_3 независимо $-O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа.

3. Производные по п. 1, где, по крайней мере, один из R_1 , R_2 и R_3 независимо $-O-(CH_2)_m-SO_3^-$ -группа, где $m=2-6$, целое число.

4. Производные по п. 1, где R_1-R_3 независимо $-O-(CH_2)_m-SO_3^-$ -группа, где $m=3$ или 4.
5. Производные по п. 1, где, по крайней мере, один из R_4 , R_6 и R_8 независимо $-O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа, R_5 , R_7 и R_9 - все - O^- .
6. Производные по п. 2, где, по крайней мере, один из R_4 , R_6 и R_8 независимо $-O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа, R_5 , R_7 и R_8 - все - O^- .
7. Производные по п. 2, где R_4 , R_6 и R_8 - каждый $-O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа, R_5 , R_7 и R_9 - O^- .
8. Производные по п. 1, где $n = 5$.
9. Производные по п. 8, где C_2-C_6 -алкилен является C_3 -алкиленом.
10. Производные по п. 8, где C_2-C_6 -алкилен является C_4 -алкиленом.
11. Производные по п. 9, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около одной $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группы на 1 молекулу циклодекстрина.
12. Производные по п. 9, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около 3, 6 $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -групп на 1 молекулу циклодекстрина.
13. Производные по п. 9, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около 7 $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -групп на 1 молекулу циклодекстрина.
14. Производные по п. 10, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около одной $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группы на 1 молекулу циклодекстрина.
15. Производные по п. 10, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около 4, 7 $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -групп на 1 молекулу циклодекстрина.
16. Производные по п.10, где производные циклодекстрина в указанной смеси содержат в среднем около 7 $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -групп на 1 молекулу циклодекстрина.
17. Производные по п. 1, где указанная смесь содержит менее 40 % непреобразованного циклодекстрина.
18. Производные по п. 8, где указанная смесь содержит менее 40 % непреобразованного циклодекстрина.
19. Производные по п. 9, где указанная смесь содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.
20. Производные по п. 10, где указанная смесь содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.
21. Производные по п. 1, где указанная смесь содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.
22. Производные по п. 8, где указанная смесь содержит менее 25 % непреобразованного циклодекстрина.
23. Производные по п. 9, где указанная смесь содержит менее 25 % непреобразованного циклодекстрина.
24. Производные по п. 10, где указанная смесь содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.
25. Клатратный комплекс производных циклодекстрина с лекарственным веществом, отличающийся тем, что производные циклодекстрина представлены общей формулой II



где $n=4, 5$ или 6 ;

R_1-R_9 каждый независимо $-O^-$ или $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа и, по крайней мере, один из R_1 и R_2 независимо $O-(C_2-C_6\text{-алкилен})-SO_3^-$ -группа;

S₁-S₉ - каждый независимо - фармацевтически приемлемый катион, причем указанные производные в среднем содержат примерно 1-(3n+6)C₂-C₆-сульфоалкильных групп на 1 молекулу указанного циклодекстрина, причем содержание недериватизированного циклодекстрина в указанной смеси находится в интервале примерно от более 5, но менее 50 мас. %, а молярное соотношение производного циклодекстрина лекарственного вещества находится в интервале от 10 : 1 до 1 : 10, предпочтительно от 2 : 1 до 5 : 1.

26. Комплекс по п. 25, где R₁ - R₃ каждый независимо -O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-группа.

27. Комплекс по п. 25, где, по крайней мере, один из R₄, R₆ и R₈ независимо -O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-группа, R₅, R₇ и R₉ - O⁻.

28. Комплекс по п. 25, где, по крайней мере, один из R₄, R₆ и R₈ независимо -O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-группа, R₅, R₇ и R₉ - O⁻.

29. Комплекс по п. 28, где R₄, R₆ и R₈ каждый независимо -O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-группа.

30. Комплекс по п. 25, где указанное лекарство является одним, выбранным из группы, содержащей, но не ограничивающейся этим: амобарбитал, ампициллин, аспирин, беклометазон, бензокаин, бензодиазепины, бетаметазон, хлорамбуцил, хлорамфеникол, хлорпромазин, хлофибрат, коэнзим А, кортизон, кортизон ацетата, циклобарбитал, дексаметазон, дексаметазон ацетат, диазепам, дигитоксин, дигоксин, эстрадиол, 5-фторурацил, фторбипрофен, гризеофульвин, гидрокортизон, гидрокортизон ацетата, ибупрофен, индометацин, кетопрофен, метициллин, метронидазол, митомицин, нитразепам, нитроглицерин, пенициллин, пентабарбитал, фенobarбитал, фенobarбитон, фенилтоин, преднизолон, преднизолон ацетат, прогестерон, простангландины А серии, простангландины В серии, простангландины Е серии, простангландины F серии, резерпин, сульфацетамид натрия, тестостерон, витамин А, витамин D₃, витамин Е, витамин К₃ и варфарин.

31. Комплекс по п. 25, где n=5.

32. Комплекс по п. 31, где C₂-C₆-алкилен является C₄-алкиленом.

33. Комплекс по п. 31, где указанный C₂-C₆-алкилен является C₃-алкиленом.

34. Комплекс по п. 32, где указанные производные циклодекстрина в указанной композиции содержат в среднем около 1; 3, 6 или 7 O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-групп на 1 молекулу циклодекстрина.

35. Комплекс по п. 33, где указанные производные циклодекстрина в указанной композиции содержат в среднем около 1; 4, 7 или 7 O-(C₂-C₆-алкилен)-SO₃⁻-групп на 1 молекулу циклодекстрина.

36. Комплекс по п. 25, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

37. Комплекс по п. 31, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

38. Комплекс по п. 32, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

39. Комплекс по п. 33, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

40. Комплекс по п. 34, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

41. Комплекс по п. 35, где указанная композиция содержит менее 40 % бета-циклодекстрина.

42. Комплекс по п. 25, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

43. Комплекс по п. 31, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

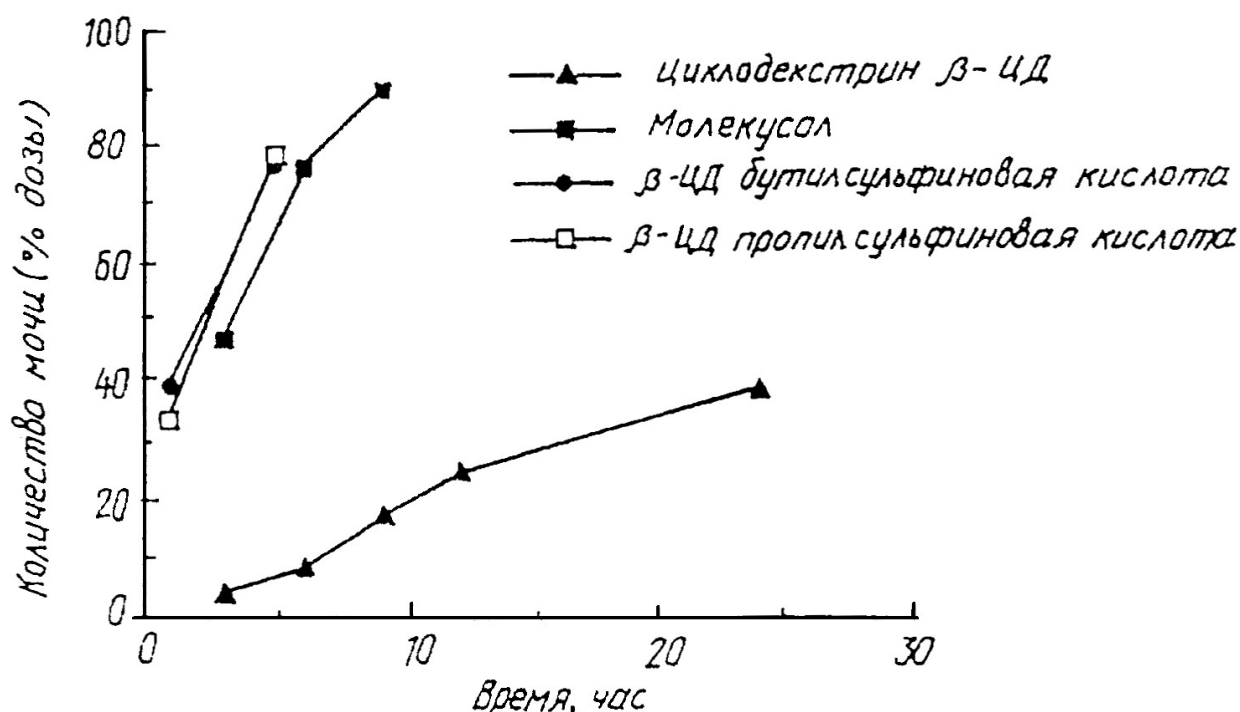
44. Комплекс по п. 32, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

45. Комплекс по п. 33, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

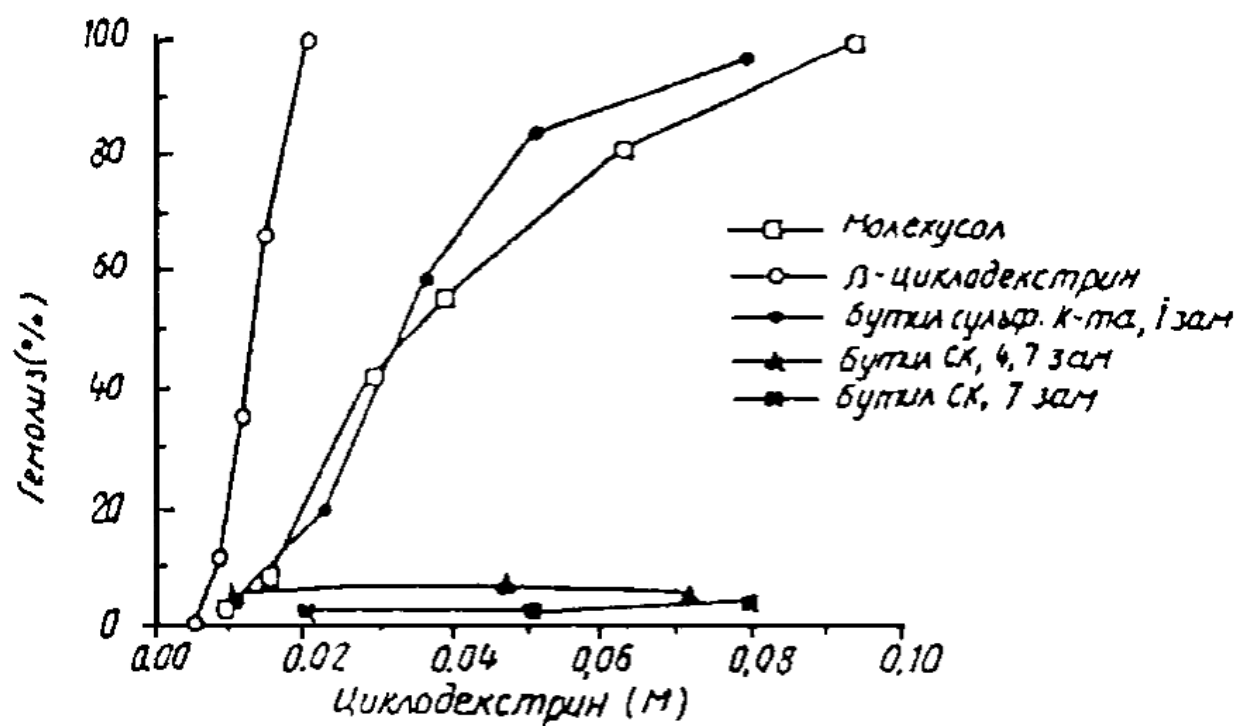
46. Комплекс по п. 34, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

47. Комплекс по п. 35, где указанная композиция содержит менее 25 % бета-циклодекстрина.

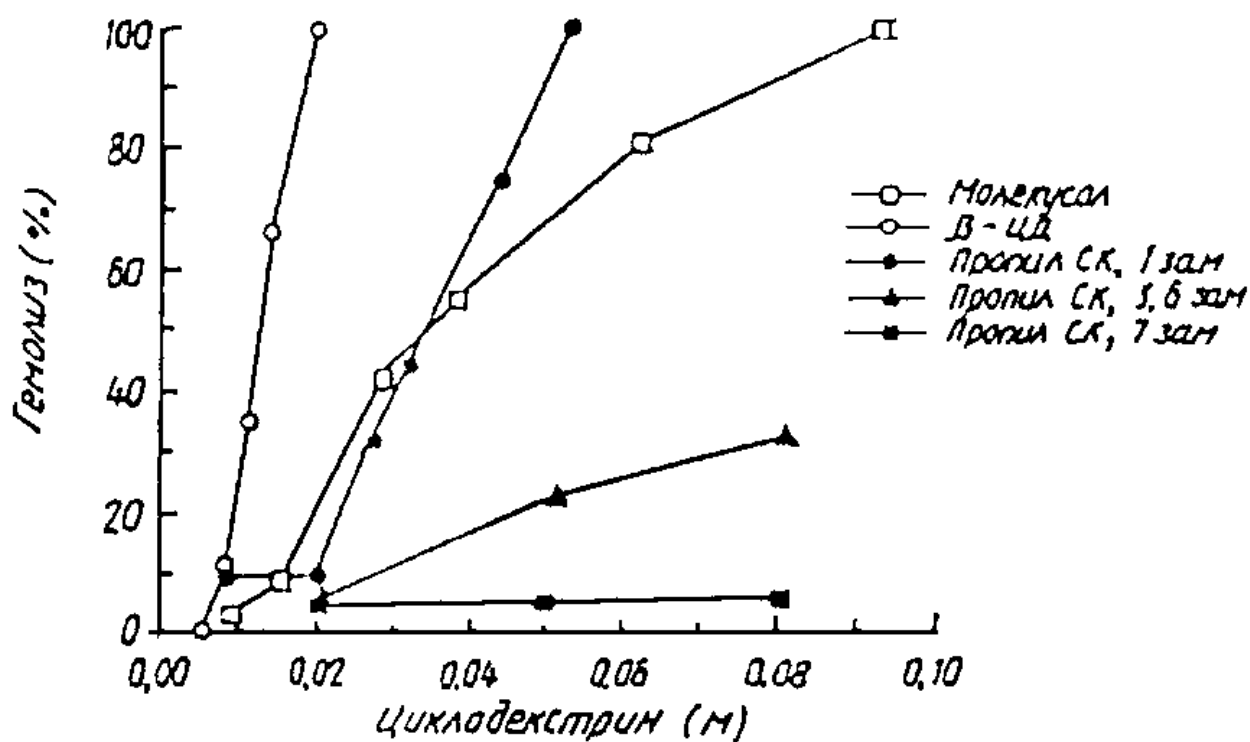
48. Фармацевтическая композиция для орального применения, содержащая фармацевтический орально приемлемый носитель и клатратный комплекс производного циклодекстрина с лекарством, отличающаяся тем, что указанный комплекс образован с производным циклодекстрина, как описано в пп.25-47.



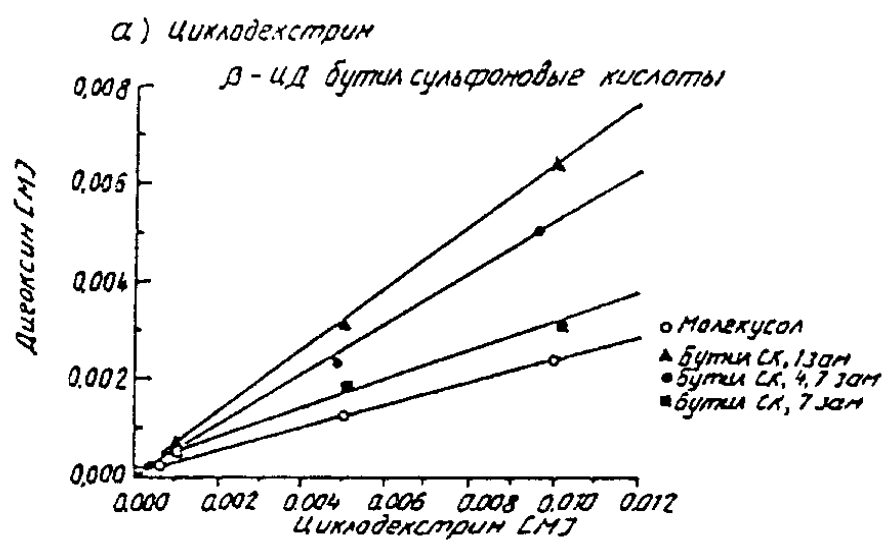
Фиг. 1. Кумулятивное выделение мочи

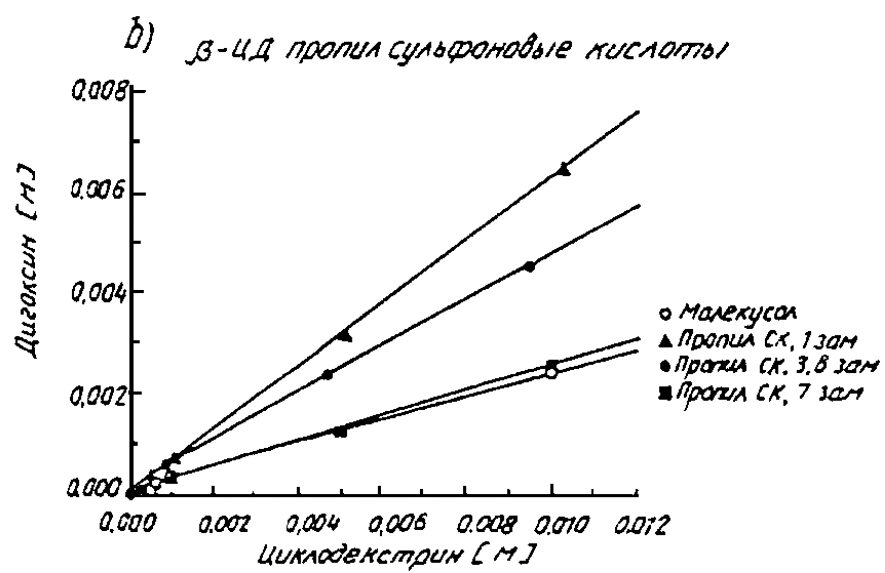


Фиг. 2. Исследования гемолиза β-циклодекстрин бутил Сульфоновой кислоты

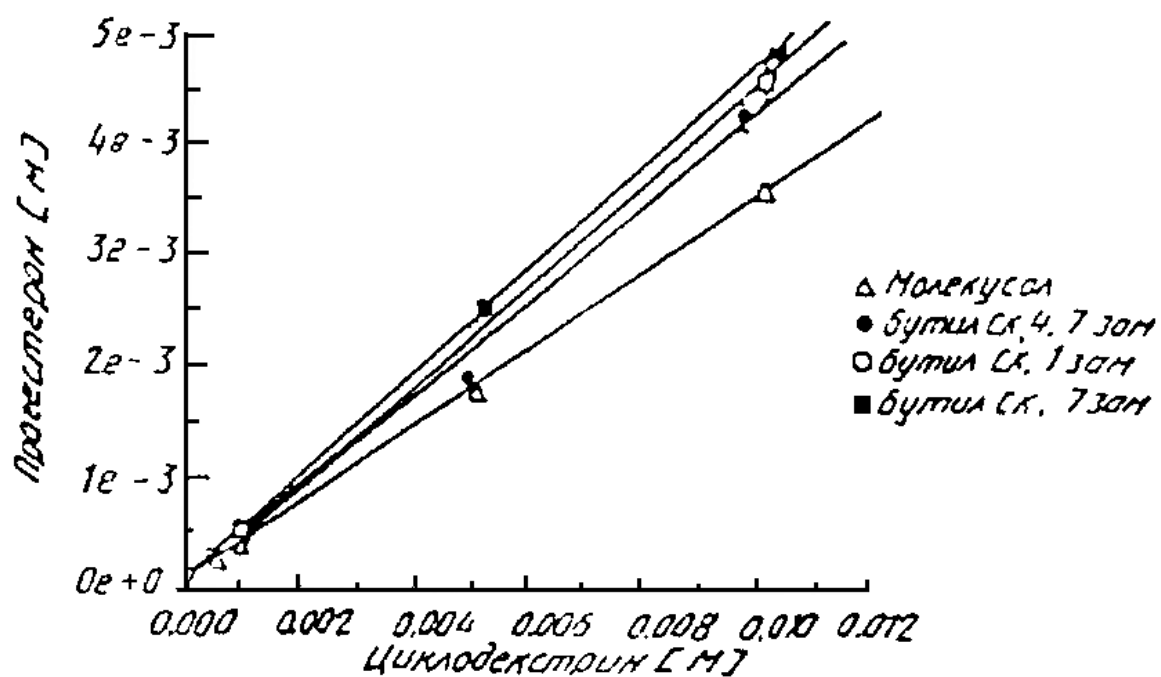


Фиг. 3. Исследования гемолиза β -циклодекстрин
пропил сульфоновой кислоты

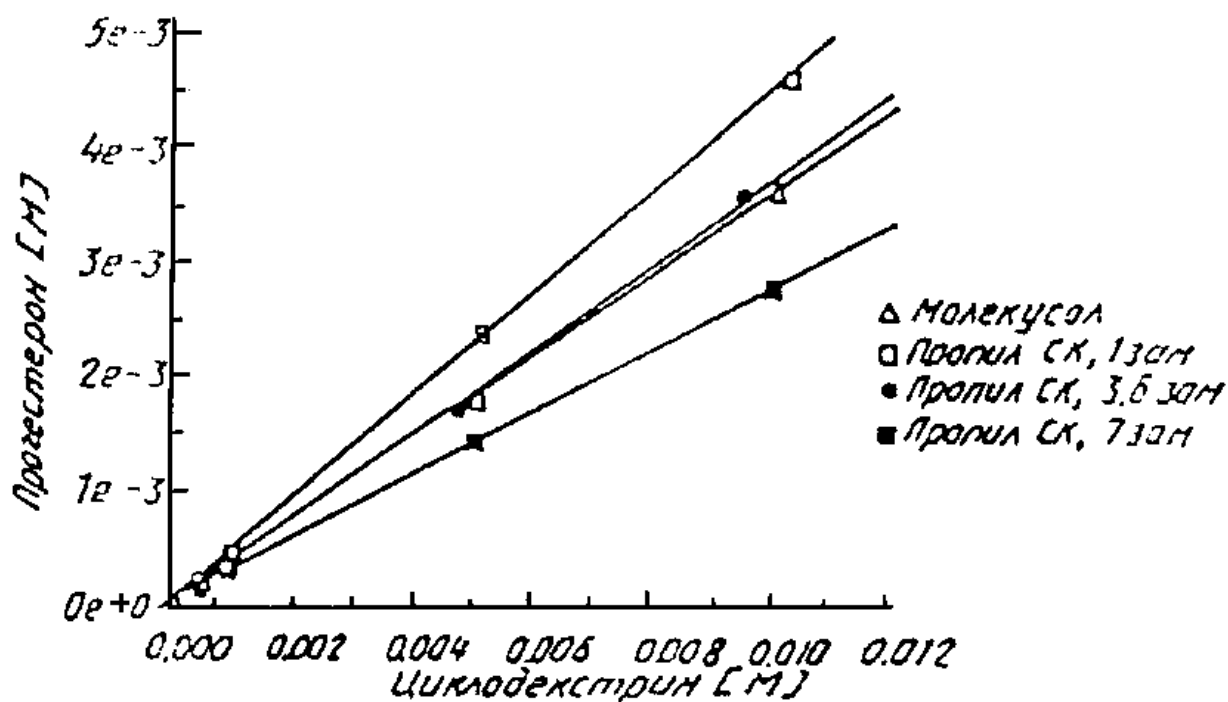




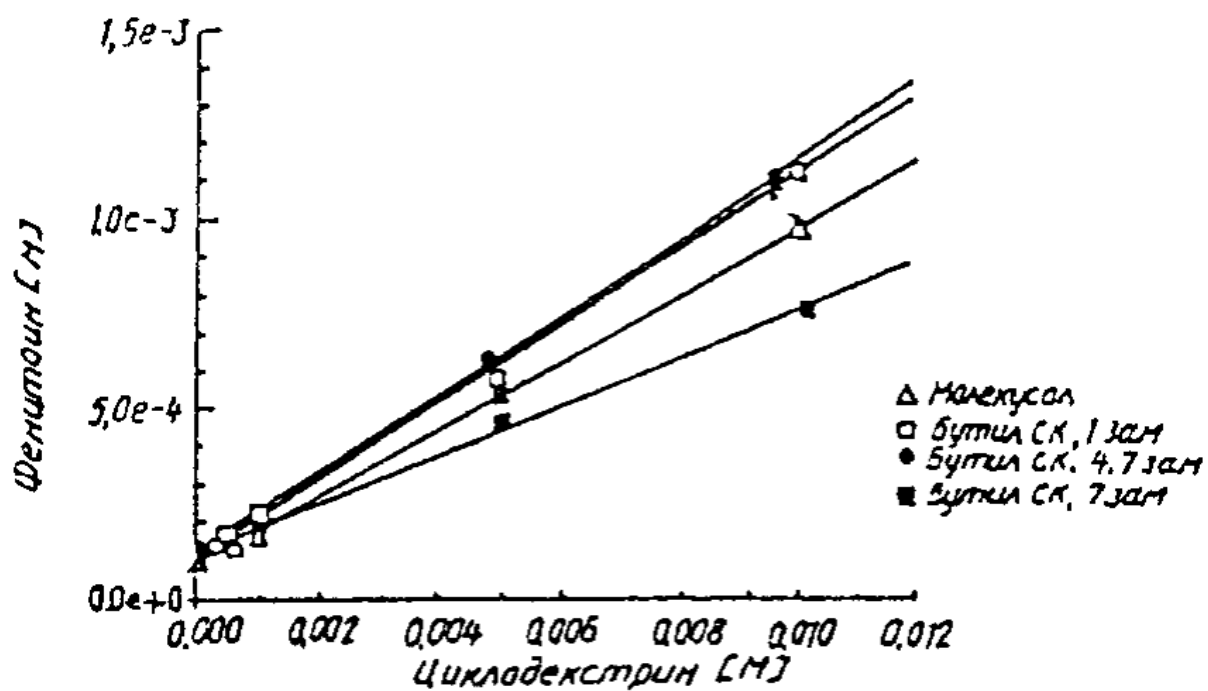
Фиг.4. Фазовая растворимость дигоксина



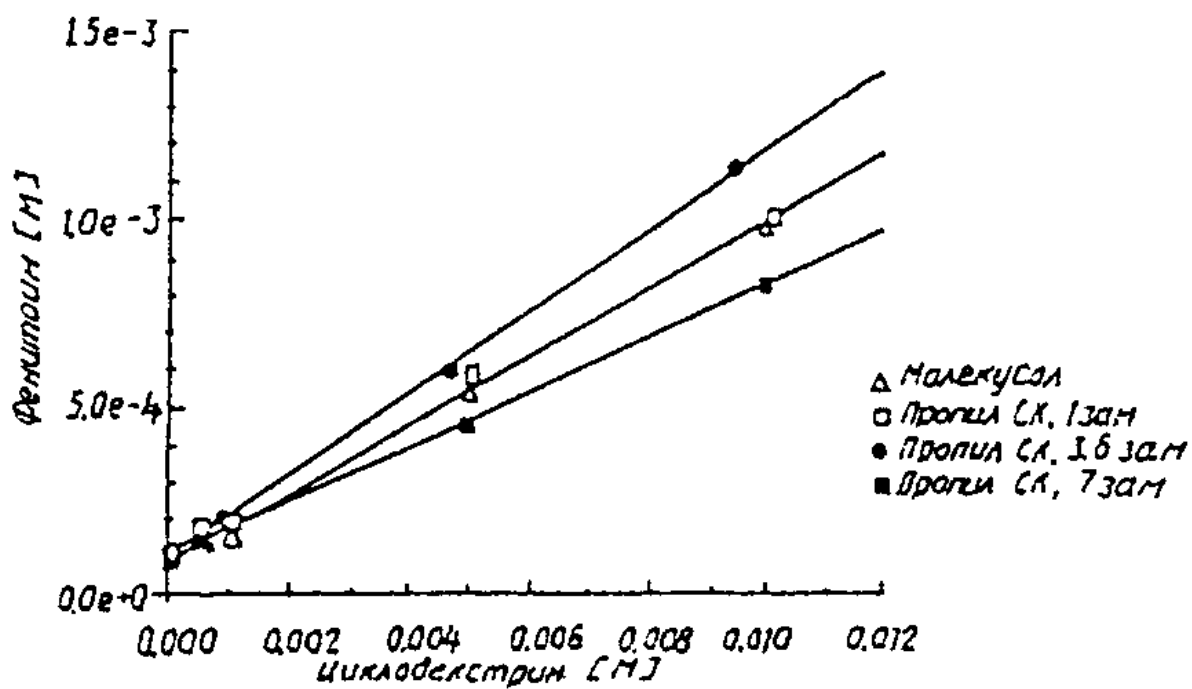
Фиг. 5. Фазовая растворимость прогестерона
β-ЦД бутил сульфоновые кислоты



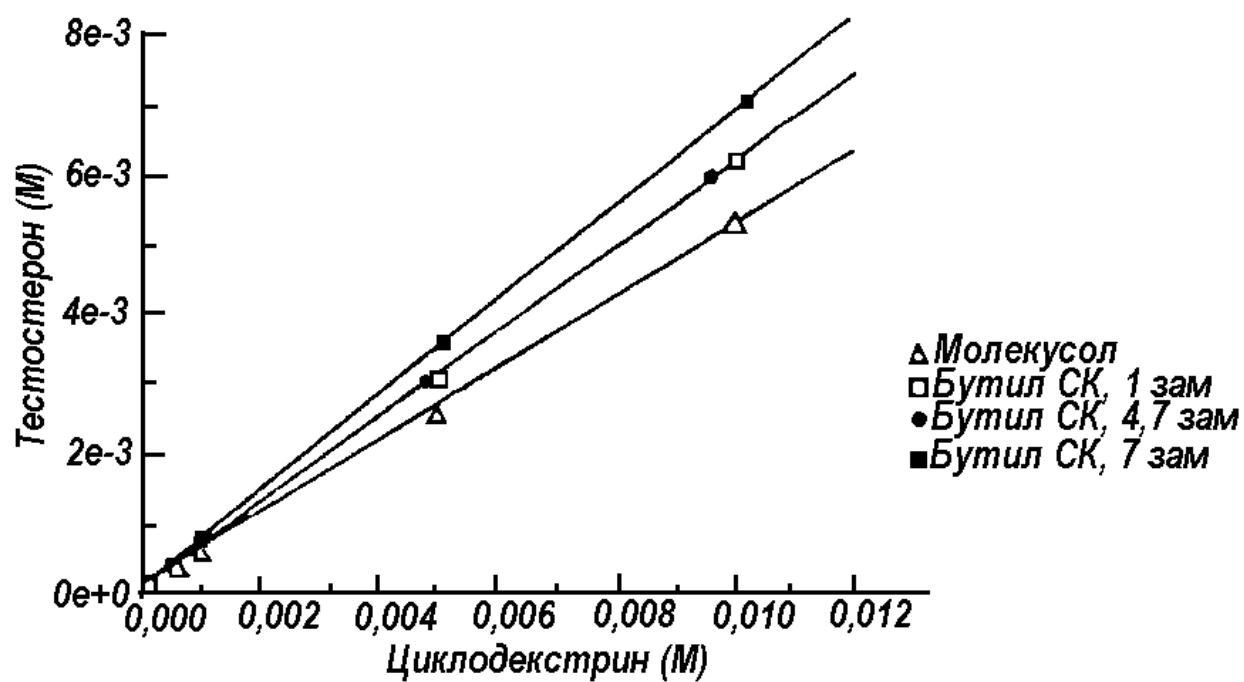
Фиг. 6. Фазовая растворимость прогестерона
γ-ЦД пропил сульфоновые кислоты



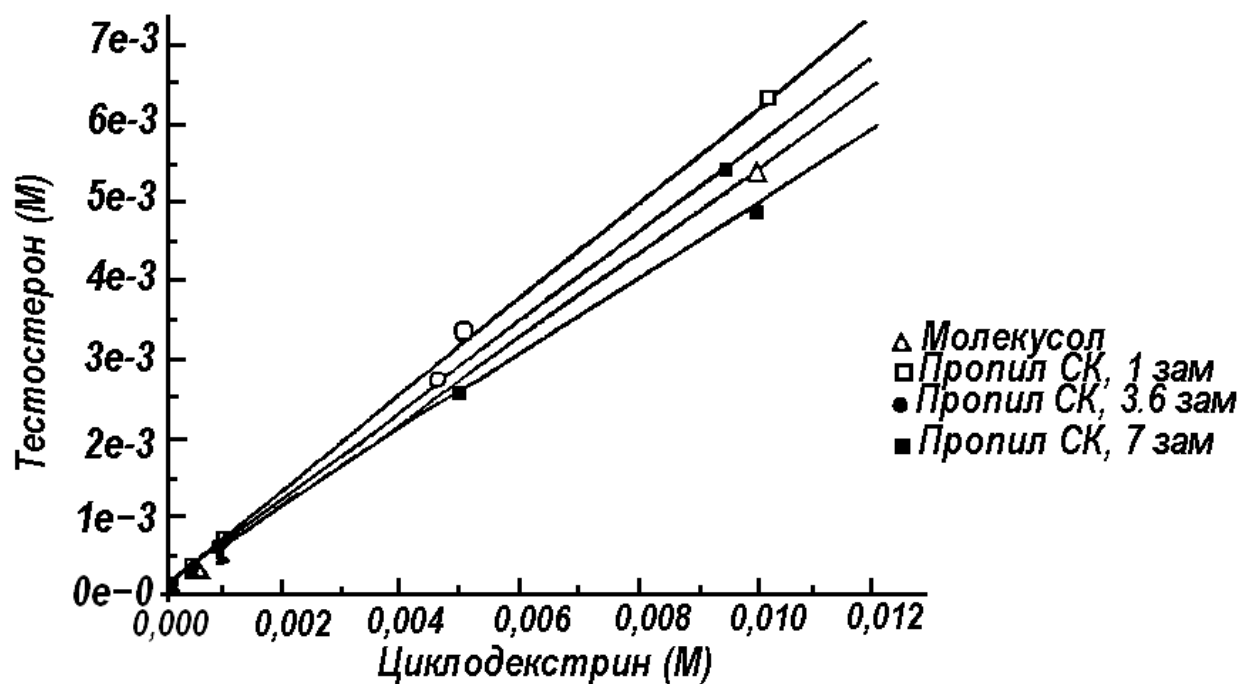
Фиг. 7. Фазовая растворимость фенитоина
β-ЦД бутил сульфоновые кислоты



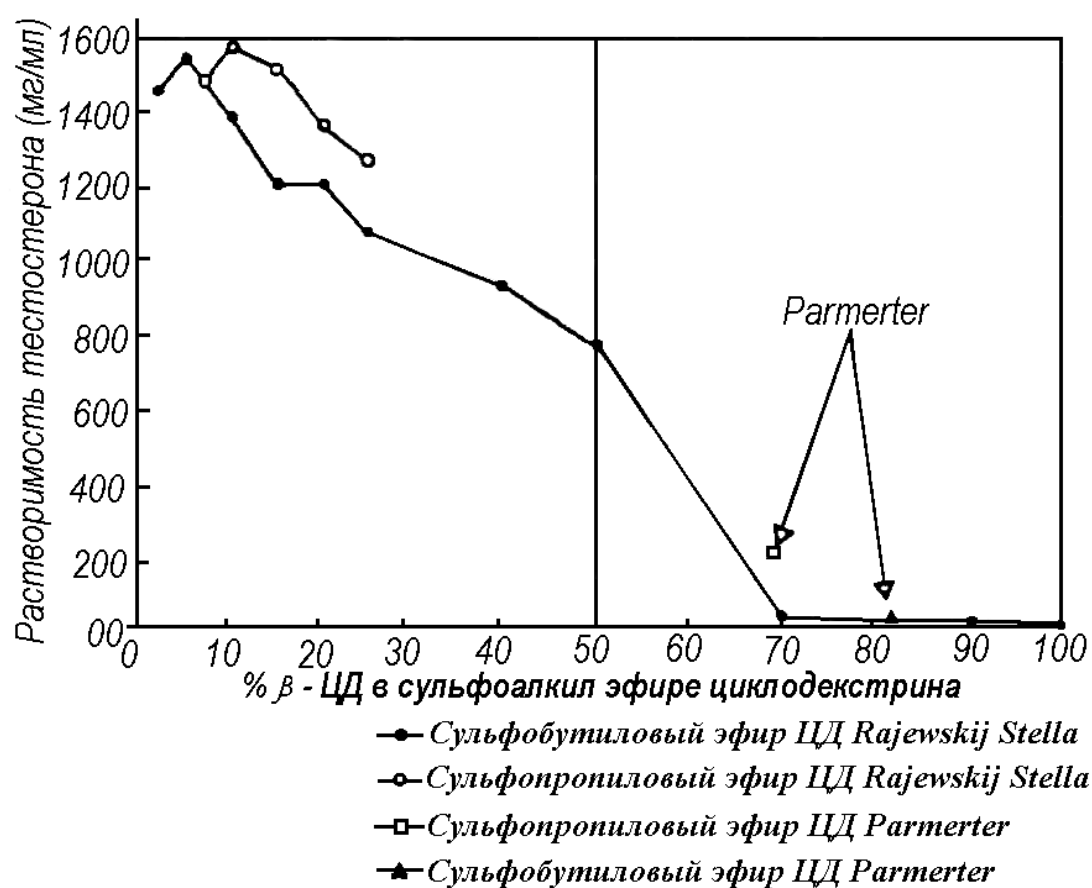
Фиг. 8. Фазовая растворимость фенитоина
β-ЦД пропил сульфоновые кислоты



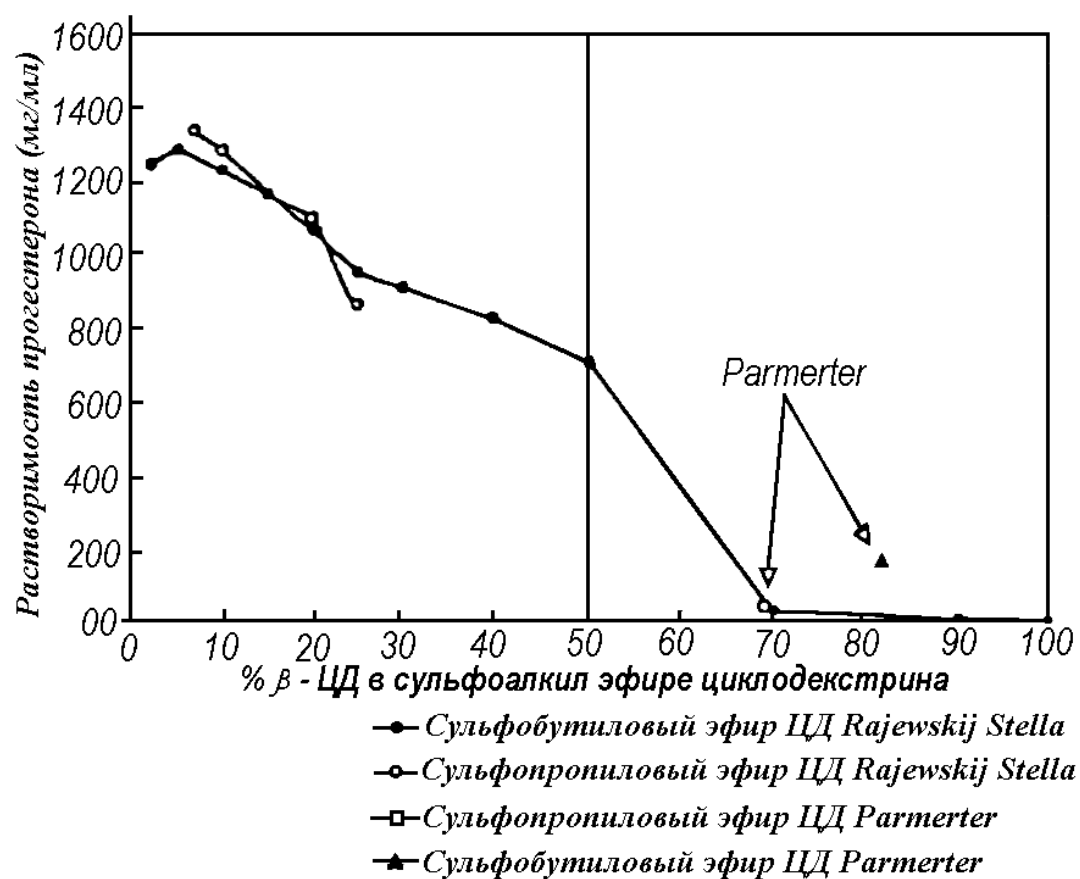
Фиг. 9. Фазовая растворимость тестостерона
 β-ЦД бутил сульфоновые кислоты



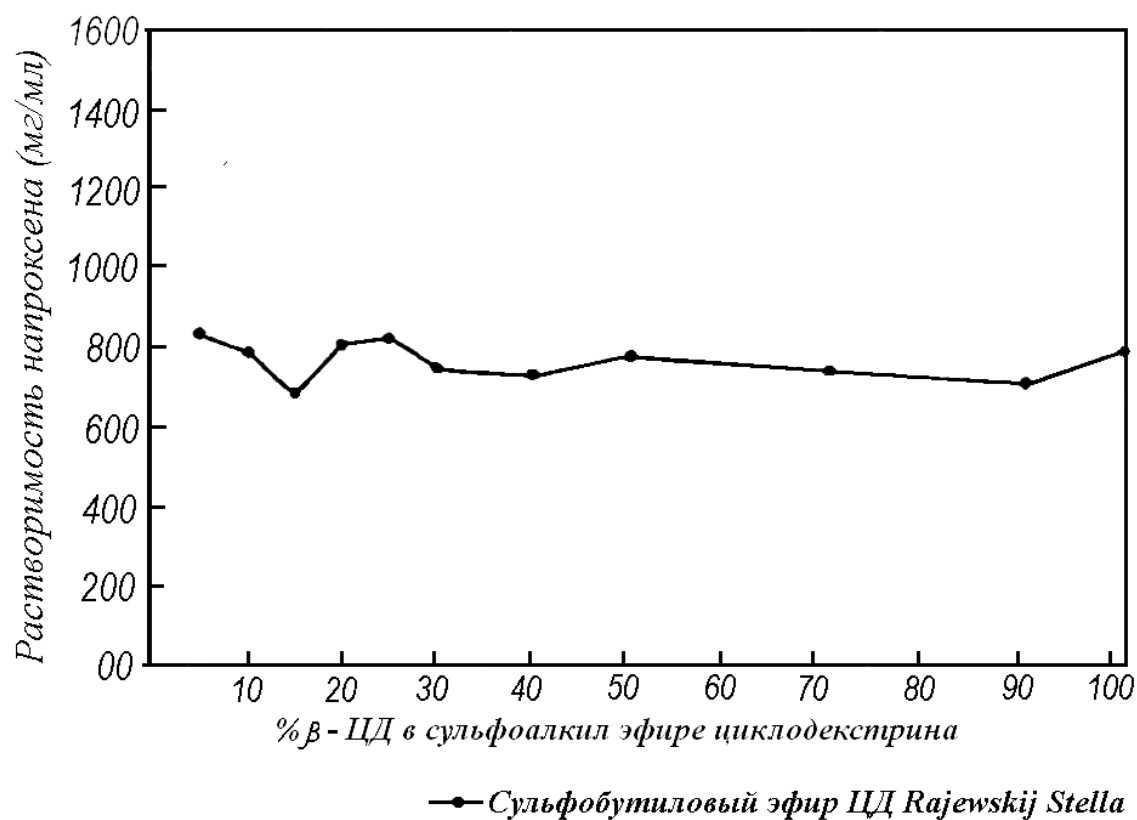
Фиг. 10. Фазовая растворимость тестостерона
 β-ЦД пропил сульфоновые кислоты



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13

Составитель описания

Никифорова М.Д.

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