

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043805**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.26

(21) Номер заявки
201890281

(22) Дата подачи заявки
2016.07.12

(51) Int. Cl. **A61K 31/593** (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01)
A61P 39/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) НОВОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СЕРНОКИСЛЫХ СОЛЕЙ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА И НОВЫЕ СЕРНОКИСЛЫЕ СОЛИ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА

(31) 102015009 022; 102015014 760

(32) 2015.07.12; 2015.11.15

(33) DE

(43) 2018.07.31

(86) PCT/EP2016/001201

(87) WO 2017/008902 2017.01.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ИННОВАЛ ТЕКНОЛОДЖИ
СВИТЦЕРЛЕНД АГ (CH)**

(72) Изобретатель:
**Салами Ойеволе Тайе, Обенланд
Зигрид, Калибе Райнхард (DE)**

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) C.G. PERRINE ET AL.: "Adherence to Vitamin D Recommendations Among US Infants", PEDIATRICS, vol. 125, no. 4, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 627-632, XP055306727, US, ISSN: 0031-4005, DOI: 10.1542/peds.2009-2571, page 628, column 2, paragraph 3

SREERAMULU NAGUBANDI ET AL.: "Synthesis and Biological Activity of Vitamin D₃ 3β-Sulfate. ROLE OF VITAMIN D₃ SULFATES IN CALCIUM HOMEOSTASIS*", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 10 June 1981 (1981-06-10), pages 5536-5539, XP055306641, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.jbc.org/content/256/11/5536.full.pdf#page=1&view=FitH> [retrieved on 2016-09-29], page 5536, right-hand column, last paragraph page 5537, left-hand column, paragraph 6

LEONOR CANCELA ET AL.: "Lack of biological activity of vitamin D₃ - 3[beta] sulfate during lactation in vitamin D-deficient rats", REPRODUCTION, NUTRITION, DEVELOPMENT, vol. 27, no. 6, 1 January 1987 (1987-01-01), pages 979-997, XP055306706, FR, ISSN: 0181-1916, DOI: 10.1051/rnd:19870802, page 980, paragraph 4, page 981, paragraph 3

BOULCH N.L. ET AL.: "Cholecalciferol sulfate identification in human milk by HPLC", STEROIDS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NEW YORK, NY, US, vol. 39, no. 4, 1 April 1982 (1982-04-01), pages 391-398, XP023429831, ISSN: 0039-128X, DOI: 10.1016/0039-128X(82)90063-0 [retrieved on 1982-04-01]. page 626, column 2, paragraph 3

THOMAS A. LEBBETTER: "THE CANADIAN MEDICAL ASSOCIATION JOURNAL", THE CANADIAN MEDICAL ASSOCIATION JOURNAL, vol. 14, no. 12, 1 January 1924 (1924-01-01), pages 1179-1182, XP055306688, page 1180, right-hand column, line 11 - line 32

(57) В изобретении описываются фармацевтически приемлемая серноокислая соль холекальциферола и L-лизина и ее применение в способе лечения или профилактики дефицита витамина D₃.

B1

043805

043805 B1

Настоящее изобретение относится к применению фармацевтически приемлемых серноокислых солей (сульфатов) холекальциферола для борьбы с недостатком витамина D₃ у позвоночных животных и прежде всего у человека путем введения в организм методом, который обеспечивает попадание серноокислых солей холекальциферола в количестве по меньшей мере 5% как таковых без метаболизации из места их введения в системную систему транспорта жидкостей в организме человека, к новым фармацевтически приемлемым серноокислым солям холекальциферола, а также к фармацевтическим композициям для вышеуказанного введения, содержащим фармацевтически приемлемые серноокислые соли холекальциферола.

Известно, что значительная часть населения земного шара страдает от недостатка витамина D₃. В организме человека витамин D₃, как известно, образуется в коже естественным путем под действием ультрафиолетового света в виде его водорастворимого сульфата (сульфата холекальциферола) из 7-дегидрохолестерина. Однако многим людям особенно в зимние месяцы невозможно получать ультрафиолетовый свет в количестве, которое необходимо для возможности образования сульфата витамина D₃ в коже в достаточном количестве.

Сульфат холекальциферола содержится в материнском молоке и в малых количествах также в другом молоке. Некоторые другие пищевые продукты, например рыбий жир, содержат несульфатированный жирорастворимый витамин D₃ (холекальциферол). В биологически активных добавках витамин D₃ также присутствует в виде жирорастворимого холекальциферола. Эта упомянутая последней форма витамина D₃ не сульфатируется в организме.

В основу настоящего изобретения была положена задача обеспечить поступление в организм натурального сульфата холекальциферола способом, обеспечивающим быстрое проявление действия или же длительное сохраняющееся действие, без необходимости облучения кожи ультрафиолетовым светом.

Краткое изложение сущности изобретения

В соответствии с этим в изобретении предлагаются применение фармацевтически приемлемых серноокислых солей холекальциферола для борьбы с недостатком витамина D₃ у позвоночных животных и прежде всего у человека путем введения в организм методом, который обеспечивает попадание серноокислых солей холекальциферола в количестве по меньшей мере 5% как таковых без метаболизации из места их введения в системную систему транспорта жидкостей в организме человека, новые фармацевтически приемлемые серноокислые соли холекальциферола, а также фармацевтические композиции для вышеуказанного введения, содержащие фармацевтически приемлемые серноокислые соли холекальциферола.

В изобретении предлагаются далее новые фармацевтически приемлемые серноокислые соли холекальциферола, прежде всего серноокислая соль холекальциферола и магния, серноокислая соль холекальциферола и кальция и серноокислая соль холекальциферола и L-лизина.

В изобретении предлагается, кроме того, фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одну фармацевтически приемлемую серноокислую соль холекальциферола и пригодный для трансдермального или трансмукозального введения либо для внутрикожной, подкожной или внутримышечной инъекции носитель.

Краткое описание графических материалов

На прилагаемом к описанию единственном чертеже показан ЯМР-спектр (200 МГц, внутренний стандарт: ТМС) серноокислой соли холекальциферола и L-лизина в D₄-метаноле.

Подробное описание изобретения

При создании изобретения неожиданно было установлено, что поступление в организм серноокислых солей холекальциферола, а тем самым и витамина D₃ в его натуральной (нативной) форме можно обеспечить определенным способом без их немедленной метаболизации до нерастворимого в воде холекальциферола или (25ОН)-холекальциферола. Лимфатическая система способна распределять в организме водорастворимые серноокислые соли холекальциферола как таковые. Водорастворимые серноокислые соли холекальциферола, конечно же, растворимы и в крови, однако могут при определенных обстоятельствах подвергаться в ней быстрому, например ферментативному, разложению.

Под борьбой с недостатком витамина D₃ согласно настоящему изобретению подразумеваются профилактика и лечение дефицита витамина D₃.

Под фармацевтически приемлемыми серноокислыми солями, соответственно сульфатами холекальциферола согласно настоящему изобретению подразумеваются соли, у которых их катион при любых условиях не токсичен для организма человека. К фармацевтически приемлемым катионам относятся, например, Na, Mg, Ca, Zn, аммоний и протонированные аминокислоты, такие как протонированный лизин.

Серноокислые соли холекальциферола обычно растворимы в воде или в водно-спиртовой смеси. В качестве примеров пригодных согласно изобретению фармацевтически приемлемых серноокислых солей холекальциферола с неорганическим катионом можно назвать серноокислую соль холекальциферола и натрия, серноокислую соль холекальциферола и магния, серноокислую соль холекальциферола и кальция и серноокислую соль холекальциферола и аммония. В качестве примеров пригодных фармацевтически приемлемых серноокислых солей холекальциферола с органическим катионом можно назвать серноокислую

соль холекальциферола и триметиламмония и серноокислую соль холекальциферола и L-лизина.

Предлагаемый в изобретении метод введения выбирают таким образом, что он обеспечивает попадание введенной серноокислой соли холекальциферола в количестве по меньшей мере 5% как таковой без метаболизации из места ее введения в системную систему транспорта жидкостей в организме человека. В более предпочтительном варианте введенная серноокислая соль холекальциферола попадает как таковая без метаболизации из места ее введения в системную систему транспорта жидкостей в организме человека в количестве, которое в зависимости от метода введения составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50%.

В предпочтительном варианте введенная серноокислая соль холекальциферола химически изменяется (метаболизируется) в по меньшей мере одной системной системе транспорта жидкости, выбранной из крови и лимфы, в течение по меньшей мере 5 мин, более предпочтительно в течение по меньшей мере 10, 15, 20 или даже 30 мин, на менее чем 70%, предпочтительно на менее чем 60%, например на 50, 40, 30, 20 или даже на 10% или менее.

Системными системами транспорта жидкостей в организме человека являются, например, кровь (кровеносная система) и предпочтительно лимфа (лимфатическая система).

Предпочтительными методами введения фармацевтически приемлемых серноокислых солей холекальциферола являются трансдермальное и трансмукозальное введения, а также внутривенная, подкожная и внутримышечная инъекции, включая инъекции препаратов пролонгированного действия с замедленным высвобождением и всасыванием действующего вещества ("депо-инъекции"). Пероральное введение (т.е. прием внутрь в желудок, например, путем глотания), а также внутривенная и внутриартериальная инъекции однозначно исключены как пути введения.

Молярное количество вводимых серноокислых солей холекальциферола соответствует в общем случае молярному количеству, рекомендованному для холекальциферола.

Серноокислые соли холекальциферола можно получать путем превращения имеющегося в продаже холекальциферола его взаимодействием с комплексным соединением триоксида серы и пиридина в пиридине и путем последующего превращения взаимодействием с триэтиламином в серноокислую соль холекальциферола и триэтиламмония, которую затем можно пересаживать в водном растворе добавлением насыщенных растворов пригодных катионов с получением солей с этими катионами.

В другом варианте холекальциферол можно превращать его взаимодействием с комплексным соединением триоксида серы и пиридина в пиридине и затем непосредственно превращать взаимодействием с требуемым катионом, при необходимости в присутствии пригодного буфера, в требуемую соль.

Предлагаемые в изобретении фармацевтические композиции содержат пригодный носитель. Кроме того, они могут содержать также дополнительные действующие вещества, такие как другие витамины, минеральные вещества и микроэлементы, а также лекарственные средства любого типа.

К пригодным для трансдермального введения носителям относятся все известные специалисту в области фармации носители, применяемые для этой цели. К ним относятся жидкие или твердые носители на жировой или масляной основе, а также носители на водной или водно-спиртовой основе. Лекарственные формы могут быть представлены в виде мазей и масел, лосьонов, растворов, которые можно распылять или разбрызгивать, суспензий и эмульсий любого типа и пластырей, содержащих действующее вещество в носителе. Лекарственные формы могут содержать усилители проникновения, такие как диметилсульфоксид, эмульгаторы, а также всякие другие обычные в фармации вспомогательные вещества, такие как разбавители, вкусовые вещества, солюбилизаторы, скользящие вещества, суспендирующие агенты, связующие, консерванты.

Лекарственные формы, пригодные для трансмукозального введения, представляют собой, например, водные или водно-спиртовые растворы, которые могут содержать дополнительные вспомогательные вещества, суппозитории на жировой основе, пригодные для вагинального применения кремы, гели, пасты, пены или аэрозоли и пессарии и тампоны, а также пригодные для местного применения в полости рта или подъязычного применения твердые дозированные лекарственные формы, включая таблетки для рассасывания, которые содержат активный компонент в ароматизированной основе, обычно сахарозе и гуммиарабике или трагаканте, пастилки, которые содержат активный компонент в инертной основе, такой как желатин или глицерин, и жевательные резинки. Лекарственные формы для трансмукозального введения также могут содержать усилители проникновения, такие как диметилсульфоксид, эмульгаторы, а также всякие другие обычные в фармации вспомогательные вещества.

Препараты (формы приготовления) в жидком виде для парентерального введения путем внутривенной, подкожной и внутримышечной инъекций охватывают суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных носителях (основах). Такие препараты могут содержать вспомогательные вещества, такие как суспендирующие агенты, стабилизаторы и/или диспергаторы. В другом варианте действующее вещество может быть представлено в виде порошка, который для приготовления окончательного состава смешивают перед употреблением с пригодным носителем, например стерильной апиrogenной водой.

Подробный обзор форм применения, которые пригодны для использования в настоящем изобретении, приведен, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, под ред. Allen, Loyd V. Jr, 22-е изд., изд-во Pharmaceutical Press.

Примеры

Пример 1. Получение сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония.

1,21 г комплексного соединения триоксида серы и пиридина (примерно 6,76 ммоль пиридина в виде комплексного соединения с SO_3 , фирма Sigma-Aldrich, содержание SO_3 не менее 45 мас.% согласно данным производителя) и 1,21 г (3,14 ммоль) холекальциферола (фирма Sigma-Aldrich) смешивали в атмосфере азота с 6,5 мл пиридина. Образовавшийся раствор интенсивно перемешивали в течение 1 ч при 58°C . Затем добавляли 0,63 мл (0,456 г, 4,55 ммоль) триэтиламина и перемешивали еще в течение 20 мин при 58°C .

После этого реакционную смесь охлаждали с помощью ледяной бани с температурой 0°C , добавляли 16,5 мл холодной смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 10:1) и перемешивали в течение 20 мин.

Раствор фильтровали через стеклянную фритту и удаляли растворитель на роторном испарителе. Остаток для последующей очистки еще дважды смешивали со смесью метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 10:1) и удаляли растворитель на роторном испарителе, в результате чего получили 1,52 г (3,13 ммоль, 99,7%) сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония.

ТСХ (силикагель): $R_f=0,42$ в смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 1:9).

Пример 2. Получение сернокислой соли холекальциферола и аммония.

1,52 г (3,13 ммоль) сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония смешивали примерно с 14 мл насыщенного раствора ацетата аммония до выпадения сернокислой соли холекальциферола и аммония в белый осадок, который после стояния в течение ночи затем отфильтровывали фильтрацией через стеклянную фритту и сушили в высоком вакууме при охлаждении водопроводной водой с температурой примерно 15°C .

Выход: 1,74 г (3,10 ммоль, 99%).

Температура плавления: $104-108^\circ\text{C}$.

Пример 3. Получение сернокислой соли холекальциферола и натрия.



1,52 г (3,13 ммоль) сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония смешивали с насыщенным раствором хлорида натрия (приблизительно 14 мл) до выпадения сернокислой соли холекальциферола и натрия в белый осадок, который после стояния в течение ночи затем отфильтровывали фильтрацией через стеклянную фритту и сушили в высоком вакууме при охлаждении водопроводной водой с температурой примерно 15°C .

Выход: 1,75 г (3,10 ммоль, 99%).

ЯМР-спектр продукта был идентичен спектру, опубликованному у L.E. Reeve et al., The Journal of Biological Chemistry, 1981, vol. 256, No. 2, p. 824.

Пример 4. Получение сернокислой соли холекальциферола и магния.

1,52 г (3,13 ммоль) сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония смешивали с насыщенным раствором хлорида магния (приблизительно 13 мл) до выпадения сернокислой соли холекальциферола и магния в белый осадок, который после стояния в течение ночи затем отфильтровывали фильтрацией через стеклянную фритту и сушили в высоком вакууме при охлаждении водопроводной водой с температурой примерно 15°C .

Выход: 1,76 г (3,10 ммоль, 99%).

Температура плавления: $107-110^\circ\text{C}$ (с разложением).

Пример 5. Получение сернокислой соли холекальциферола и кальция.

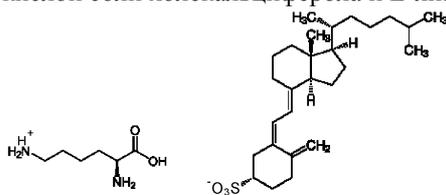
1,52 г (3,13 ммоль) сернокислой соли холекальциферола и триэтиламмония смешивали с насыщенным раствором $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (приблизительно 13 мл) до выпадения сернокислой соли холекальциферола и кальция в белый осадок, который после стояния в течение ночи затем отфильтровывали фильтрацией через стеклянную фритту и сушили в высоком вакууме при охлаждении водопроводной водой с температурой примерно 15°C .

Выход: 1,81 г (3,10 ммоль, 99%).

ТСХ (силикагель): $R_f=0,48$ в смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 1:9).

Температура плавления: $97-101^\circ\text{C}$ (с разложением).

Пример 6. Получение сернокислой соли холекальциферола и L-лизина.



517,4 мг комплексного соединения триоксида серы и пиридина (фирма Sigma-Aldrich, содержание SO_3 не менее 45 мас.% согласно данным производителя) (примерно 2,90 ммоль пиридина в виде комплексного соединения с SO_3) и 506,3 мг (1,32 ммоль) холекальциферола (фирма Sigma-Aldrich) растворяли в атмосфере азота в 4,4 мл пиридина и в течение 1 ч нагревали при интенсивном перемешивании и при 55°C . После добавления 10 мл охлажденной льдом смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 1:9) удаляли растворители на ротормном испарителе. Затем добавляли 0,29 г L-лизина (1,98 ммоль) в 0,5 мл натрийфосфатного буферного раствора с pH 7,3 и перемешивали в течение 5 мин. Затем при перемешивании добавляли 20 мл охлажденной льдом смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 1:9), после чего смесь упаривали на ротормном испарителе. К остатку добавляли 10 мл абсолютного этанола и раствор помещали на ночь в холодильный шкаф. После этого этанол декантировали с образовавшегося белого кремообразного осадка и остаток сушили при охлаждении водопроводной водой с температурой примерно 15°C , получив в результате указанное в заголовке соединение в виде белого порошка (815 мг, 1,30 ммоль, 98,5%).

ТСХ (силикагель): $R_f=0,33$ в смеси метанола и трихлорметана (в объемном соотношении 1:9).

Температура плавления: 168°C (с разложением).

ЯМР-спектр: см. прилагаемый к описанию чертеж.

Пример 7. Получение сернокислой соли холекальциферола и D,L-лизина.

Сернокислую соль холекальциферола и D,L-лизина получали аналогично получению сернокислой соли холекальциферола и L-лизина, используя D,L-лизин (фирма Sigma-Aldrich) вместо L-лизина.

ЯМР-спектр в D_4 -метаноле подтвердил структуру полученного продукта.

Пример 8. Трансдермальная лекарственная форма сернокислой соли холекальциферола и L-лизина в масляной основе.

100 мг сернокислой соли холекальциферола и L-лизина смешивали с 11,04 мл олеиновой кислоты, после чего добавляли 0,83 мл диметилсульфоксида. Затем смесь в течение 2 дней перемешивали магнитной мешалкой при комнатной температуре ($21\text{--}25^\circ\text{C}$). Далее добавляли 10 мл триолеата глицерина и 7 мл моноолеата глицерина (Pescerol®, фирма Gattefosse) и смесь интенсивно встряхивали. После ожидания, до тех пор пока смесь не обесцветится, получили практически полностью прозрачный стабильный раствор сернокислой соли холекальциферола и L-лизина в масляной основе.

Пример 9. Нанесение трансдермальной лекарственной формы из примера 8 на кожу.

Примерно 2 мл приготовленной согласно примеру 8 лекарственной формы наносили тонким слоем на кожу испытуемого и оставляли впитываться на 4 ч. Затем кожу тщательно протирали стерильным ватным тампоном, пропитанным 96%-ным этанолом. Ватный тампон вываривали с дополнительным количеством 96%-ного этанола и отжимали, после чего этанол испаряли на ротормном испарителе и в колбу добавляли небольшое количество смеси хлороформа и метанола (в объемном соотношении 9:1). ТСХ-анализ этой смеси на силикагеле показал, что на коже практически не осталось никакого количества сернокислой соли холекальциферола и L-лизина ($R_f=0,33$).

Пример 10. Приготовление водных растворов для инъекций.

Для приготовления раствора для инъекций объемом 2 мл, содержащего сернокислую соль холекальциферола в количестве, которое соответствует 10000 МЕ витамина D_3 :

- 1,5695 мг сернокислой соли холекальциферола и натрия для приготовления раствора А,
- 1,6243 мг сернокислой соли холекальциферола и кальция для приготовления раствора Б и
- 1,970 мг сернокислой соли холекальциферола и L-лизина для приготовления раствора В

растворяли в каждом случае в 10 мл дистиллированной воды. Затем к каждому раствору для придания ему изотоничности добавляли по 89,9028 мг хлорида натрия.

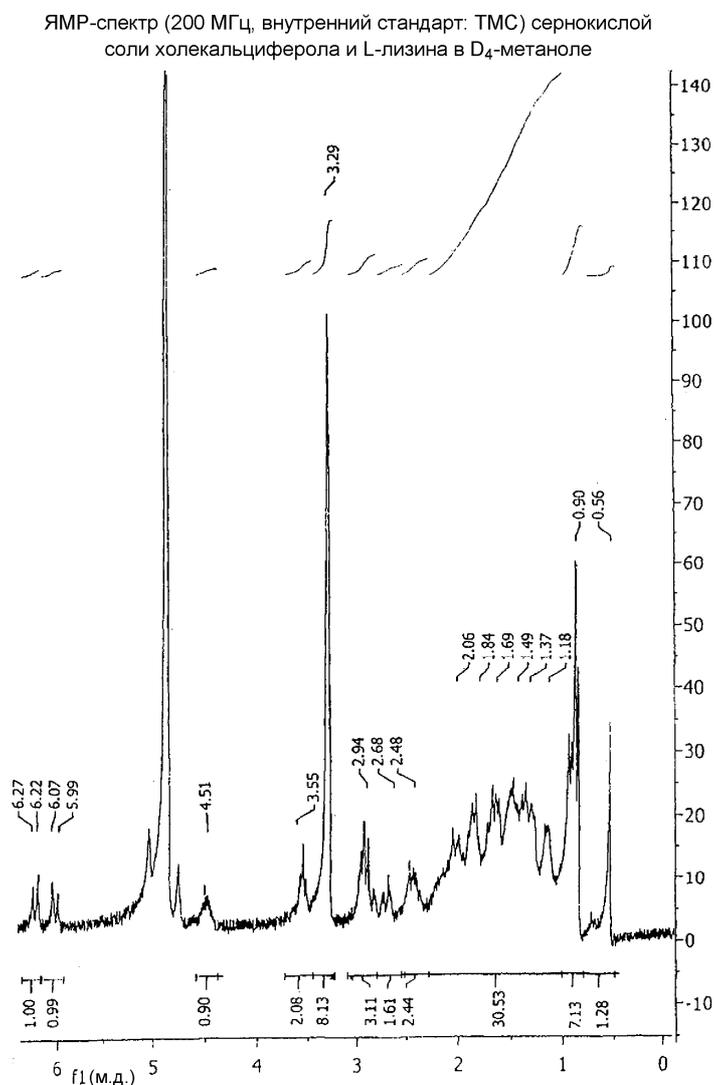
Значение pH раствора Б устанавливали на 7 с помощью 0,5н. NaOH.

Затем растворы стерилизовали в атмосфере аргона путем фильтрации через мембрану с размером пор 0,22 мкм и разливали в 2-миллилитровые ампулы.

Информация, раскрытая во всех цитируемых в настоящем описании печатных изданиях, таких как описания изобретений к патентам, опубликованные заявки на патент, журнальные статьи и книги, в полном объеме включена в настоящее описание в качестве ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтически приемлемая сернокислая соль холекальциферола и L-лизина.
2. Способ лечения или профилактики дефицита витамина D₃, включающий введение в организм позвоночных животных и человека фармацевтически приемлемой сернокислой соли холекальциферола по п.1 и носителя, пригодного для трансдермального или трансмукозального введения либо для внутривенной, подкожной или внутримышечной инъекции.
3. Способ по п.2, где инъекции представляют собой инъекции препаратов пролонгированного действия с замедленным высвобождением действующего вещества.
4. Способ по п.2, где носитель представляет собой пригодный для трансдермального введения носитель на масляной или жировой основе.
5. Способ по п.2, где носитель представляет собой пригодный для трансдермального введения носитель на водной или водно-спиртовой основе.
6. Способ по одному из пп.2-5, где фармацевтически приемлемая сернокислая соль холекальциферола и носитель представлены в виде пластыря.
7. Способ по п.2, где носитель представляет собой пригодный для трансмукозального введения носитель на водной или водно-спиртовой основе.
8. Способ по п.2, где носитель представляет собой пригодный для внутривенной, подкожной или внутримышечной инъекции носитель на водной или водно-спиртовой основе.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2