



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42028 (13) C2

(51) 7 A61K38/21, A61K47/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) ПРЕПАРАТ α -ІНТЕРФЕРОНУ У ВИГЛЯДІ СТАБІЛЬНОГО ВОДНОГО РОЗЧИНУ

(21) 97052124

(22) 10 10 1995

(24) 15 10 2001

(31) 08/329,813

(32) 11 10 1994

(33) US

(86) PCT/US95/12362, 10 10 1995

(46) 15 10 2001, Бюл. № 9, 2001 р.

(72) Юен Пу-Хо Ц., US, Клайн Даллес Ф., US

(73) ШЕРІНГ КОРПОРЕЙШН, US

(56) RU, C1, 2016572, 30 07 1994

EP, A, 0284249, 28 09 1988

(57) 1 Водный препарат α -интерферона, содержащий буферную систему, поддерживающую значение pH раствора в интервале от 4,5 до 7,1, эффективное количество хелатообразователя, производное моно-9-октадеканата поли-(окси-1,2-этандинил)-сорбитана в количестве, необходимом для стабилизации α -интерферона и предотвращения потери его активности, эффективное количество агента, обеспечивающего осмотическую раствор, эффективное количество консерванта, обладающего антимикробной активностью и воду для инъекции в количестве, необходимом для приготовления раствора, **отличающийся** тем, что он содержит от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 ME/мл α -интерферона

2 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве буферной системы содержит двузамещенный фосфат натрия и монозамещенный фосфат натрия

3 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве хелатообразователя содержит динатрий ЭДТА или лимонную кислоту

4 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве агента, обеспечивающего осмотическую раствор, содержит хлорид натрия

5 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве консерванта содержит вещество, выбранное из группы, включающей мета-крезол, фенол, метилпарабен, пропилпарабен или их смеси

6 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве α -интерферона содержит интерферон α -2

7 Водный препарат α -интерферона по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве α -интерферона

содержит интерферон α -2, в качестве буферной системы - безводный двузамещенный фосфат натрия и моногидрат однозамещенного фосфата натрия, в качестве хелатообразователя - дигидроэтилендиаминтетраацетат динатрия, в качестве агента, обеспечивающего осмотическую раствор - хлорид натрия, а в качестве консерванта - смесь полисорбата 80, метилпарабена и пропилпарабена, при следующем соотношении компонентов (мг/мл)

| | |
|---|----------|
| безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 |
| моногидрат однозамещенного фосфата натрия | 1,3 |
| дигидроэтилендиаминтетраацетат динатрия | 0,1 |
| полисорбат 80 | 0,1 |
| метилпарабен | 1,2 |
| пропилпарабен | 0,12 |
| хлорид натрия | 7,5 |
| вода для инъекций | до 1 мл, |

при этом концентрация интерферона α -2 составляет $5 \times 10^6 \div 50 \times 10^6$ ME/мл

8 Водный препарат по п. 1, **отличающийся** тем, что в качестве α -интерферона содержит интерферон α -2, в качестве буферной системы - безводный двузамещенный фосфат натрия и моногидрат однозамещенного фосфата натрия, в качестве хелатообразователя - дигидроэтилендиаминтетраацетат динатрия, в качестве агента, обеспечивающего осмотическую раствор, - хлорид натрия, в качестве консерванта - полисорбат 80 и мета-крезол, при следующем соотношении компонентов, мг/мл

| | |
|---|----------|
| безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 |
| моногидрат однозамещенного фосфата натрия | 1,3 |
| дигидроэтилендиаминтетраацетат динатрия | 0,1 |
| полисорбат 80 | 0,1 |
| мета-крезол | 1,5 |
| хлорид натрия | 7,5 |
| вода для инъекций | до 1 мл, |

при этом концентрация интерферона α -2 составляет $5 \times 10^6 \div 50 \times 10^6$ ME/мл

Настоящее изобретение относится к препаратам в виде стабильных водных растворов, не содержащим компонентов, полученных из сыворотки крови человека, и способным в течение длительного времени сохранять высокую биологическую активность, а также высокую химическую и физическую стабильность, свойственные α -интерферонам

В патенте США № 4496537 описаны препараты биологически стабильных водных растворов α -интерферона, в состав которого входит α -интерферон, сывороточный альбумин человека, аланин или глицин, вода и буферная система для поддержания pH раствора на уровне 6,5-8,0. Сывороточный альбумин человека (САЧ) играет роль стабилизатора α -интерферона и предотвращает потери α -интерферона в растворе, происходящие в результате отложения и/или адсорбции α -интерферона на поверхности из нержавеющей стали или стекла, из которых изготовлены сосуды для получения раствора, технологическое оборудование и контейнеры, предназначенные для хранения раствора, α -интерферон, входящий в состав препаратов, содержащих α -интерферон и САЧ, сохраняет биологическую и химическую стабильность в течение длительного времени, т.е. более 2-х лет, при хранении его при температуре 2-8°C

В последние годы из-за эпидемии СПИД, распространившейся по всему земному шару, органы здравоохранения, контролирующие регистрацию лекарственных препаратов, требуют от фармацевтических фирм, производящих лекарственные препараты, которые подобно α -интерферону, содержат компоненты, полученные из крови человека (такие, как САЧ), сопровождать препараты соответствующими предостережениями

В связи с указанным возникла необходимость создания новой рецептуры препаратов, содержащих растворы α -интерферона, с тем, чтобы водные растворы, полученные в соответствии с новой рецептурой, не содержали бы компонентов, полученных из крови человека, подобных САЧ, сохраняя при этом в течение длительного периода хранения высокую физическую и химическую стабильность, а также высокую биологическую активность, присущую α -интерферону

Настоящее изобретение относится к стабильному водному раствору препарата α -интерферона, способному сохранять высокую биологическую активность, и не содержащему компонентов, полученных из крови человека. Указанный препарат включает следующее

а от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона,

б буферную систему, поддерживающую pH раствора в интервале от 4,5 до 7,1 pH,

в эффективное количество хелатообразователя,

г производное моно-9-октадеканата поли(окси-1,2-этандиола) сорбитана — в количестве, достаточном для стабилизации α -интерферона и предотвращения его потери,

д эффективное количество веществ, обеспечивающих осмотическую активность раствора,

е эффективное количество консерванта, обладающего антимикробной активностью,

ж воду для инъекций в количестве, необходимом для приготовления раствора, содержащего все перечисленные выше компоненты

Настоящее изобретение относится к стабильному водному раствору препарата α -интерферона, обладающему высокой биологической активностью и не содержащему компонентов, полученных из крови человека. Указанный препарат включает следующее

а от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона,

б буферную систему для поддержания pH раствора в интервале от 4,5 до 7,1 pH,

в от 0,01 до 1 мг/мл дигидроэтилendiамин-тетраацетата динатрия,

г от 0,01 до 1 мг/мл производного моно-9-октадеканата поли-(окси-1,2-этандиола)-сорбитана,

д от 1 до 9 мг/мл хлористого натрия,

е эффективное количество консерванта, обладающего антимикробной активностью, и выбранного из группы: мета-крезол, фенол, метилпарабен, пропилпарабен или их смесь,

ж воду для инъекций до общего объема 1 мл

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой стабильный водный раствор препарата α -интерферона, обладающий высокой биологической активностью и не содержащий компонентов, полученных из крови человека, который имеет следующий состав

| | мг/мл |
|--|---|
| а α -2 интерферон | от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ |
| б Безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 |
| в Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат | 1,3 |
| г Дигидроэтилendiамин-тетраацетат динатрия | 0,1 |
| д Полисорбат-80 | 0,1 |
| е Метилпарабен | 1,2 |
| ж Пропилпарабен | 0,12 |
| з Хлорид натрия | 7,5 |
| и Вода для инъекций | до общего объема до 1 мл |

В других случаях особенно предпочтительна форма осуществления настоящего изобретения, описанная далее, которая представляет собой стабильный водный раствор препарата α -интерферона, обладающий высокой биологической активностью и не содержащий компонентов, полученных из крови человека, включающий

| | мг/мл |
|--|---|
| а α -2 интерферон | от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ |
| б Безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 |
| в Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат | 1,3 |
| г Дигидроэтилendiамин-тетраацетат динатрия | 0,1 |
| д Полисорбат 80 | 0,1 |
| е Мета-крезол | 1,5 |
| ж Хлорид натрия | 7,5 |
| з Вода для инъекций | сколько требуется до 1 мл |

Настоящее изобретение также относится к способу получения стабильного водного раствора препарата α -интерферона, обладающего высокой биологической активностью и не содержащего компонентов, полученных из крови человека, путем смешивания эффективного количества α -интерферона с буферной системой, поддерживающей значения pH раствора в интервале от 4,5 до 7,1 pH, производным моно-9-октадеканата поли(окси-1,2-этандиол)-сорбитана в качестве хелатообразующего агента, обеспечивающего поддержание изотоничности раствора, консервантом, обладающим антимикробной активностью, и водой в количестве, достаточном для приготовления раствора. Предпочтительным вариантом способа получения препарата, согласно настоящему изобретению, является приготовление и хранение раствора практически в отсутствии растворенного кислорода и при наличии свободного пространства над раствором, заполненного инертной газовой средой, объемное содержание кислорода в которой не превосходит 4%.

Были найдены специфические количества и специфический набор ингредиентов, позволившие разработать препарат стабильного водного раствора α -интерферона, не содержащий сывороточный альбумин человека (САЧ), и при этом сохраняющий высокую химическую, физическую и биологическую стабильность содержащегося в нем α -интерферона при хранении его в течение длительного времени (не менее 24 месяцев) при температуре от 2 до 8°C.

Термин "не содержащий компонентов, полученных из крови человека", используемый в тексте в отношении препаратов согласно настоящему изобретению означает, что при получении препаратов растворов, согласно настоящему изобретению, не используются никакие компоненты, полученные из крови человека, такие как САЧ.

Термин "высокая химическая стабильность", используемый в данном тексте в отношении препаратов α -интерферона согласно настоящему изобретению означает, что при хранении в течение не менее 24 месяцев при температуре от 2 до 8°C, сохраняется не менее 85%, а в предпочтительной форме от 85% до 100% вещества, являющегося по своему химическому составу интактным α -интерфероном (см. табл. 1 и 2). Химическую однородность определяют путем измерения содержания белка по методу высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЖХ), подобно описанному T. L. Nagabhushan и др., в статье "Определение характеристик генно-инженерного α -2-интерферона", стр. 79-88 книги *Interferon Research Clinical Application and Regulatory Consideration*, Zoon и др., изд-во Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1984 (результаты представлены в табл. 1-4).

Термин "высокая биологическая стабильность", используемый в данном тексте в отношении препаратов α -интерферона согласно настоящему изобретению означает, что при хранении в течение не менее 24 месяцев при температуре от 2 до 8°C, α -интерферон в составе препарата сохраняет не менее 75%, в предпочтительной форме не менее 85%, а в наиболее предпочтительной форме от 90% до 100% присущей ему биологической активности. Биологическую актив-

ность определяют по методу подавления цитопатического действия (ЦПД) вируса, описанному в статье W. P. Protzman и др., в журнале *J Clinical Microbiology*, (1985), т. 22, стр. 596-599.

Термин "высокая физическая стабильность", используемый в данном тексте в отношении препаратов α -интерферона согласно настоящему изобретению, означает, что при хранении в течение не менее 24 месяцев при температуре от 2 до 8°C, препарат согласно данному изобретению, сохраняет прозрачность, т.е. в нем отсутствуют помутнение или видимые макрочастицы, диаметр которых превышает 60-70 микрон (см. табл. 1, 2 и 3). Результаты, представленные в табл. 1, 2 и 3, неожиданны тем, что большинство растворов препаратов, в состав которых входят белки, подобные α -интерферону, проявляют тенденцию к появлению в них при длительном хранении твердых частиц, видимых невооруженным глазом (т.е. частиц, диаметр которых превышает 60-70 микрон) даже при температуре от 2 до 8°C. Для определения содержания твердых частиц в препаратах в виде растворов, являющихся объектом данного изобретения, использовался метод испытаний (см. табл. 1-4), описанный в *The United States Pharmacopeia/The National Formulary USP 23/NF 18*, опубликованной United States Pharmacopeial Convention, Inc., (1995), Rockville, Maryland, см. *Physical Test <788>* на стр. 1813-1816. Метод, использованный для визуального описания растворов препаратов согласно данному изобретению, также описан в USP 23, как "General Requirement Test and Assays <1> Injections", на стр. 1850-1852.

Было обнаружено, что добавление хелатообразующего агента в препараты в виде растворов, являющиеся объектом данного изобретения, позволяет избежать появления в растворе видимых твердых частиц. Типичными подходящими хелатообразующими агентами являются дигидроэтилendiаминтетраацетат динатрия (или ЭДТА динатрия), и лимонная кислота. Предпочтительнее использовать ЭДТА динатрия. Без выдвижения какой-либо теории предполагается, что ЭДТА динатрия эффективно образует комплексы с катионами металлов, содержащимися в растворе в следовых количествах, такими как Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , которые могут присутствовать в эксципиентах и компонентах упаковки, например, в составе резиновых пробок и прокладок. Поскольку ЭДТА динатрия имеет большее химическое сродство к катионам этих металлов, чем α -интерфероны, введение этого компонента позволяет избежать взаимодействия между α -интерфероном и катионами металлов, т.е. избежать образования нерастворимых комплексов (например, в форме видимых твердых частиц), и, следовательно, потери активности α -интерферона. Эффективное количество хелатообразующего агента (из расчета содержания α -интерферона в пределах от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 Международных единиц/мл (МЕ)/мл) находится в интервале от 0,01 до 1 мг/мл. В случае препарата, содержащего от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ α -интерферона, предпочтительнее использовать 0,1 мг ЭДТА динатрия.

Буферные системы, используемые в препаратах, являющихся объектом данного изобретения, должны обеспечивать поддержание pH

водного раствора препаратов в интервале от 4,5 до 7,1 pH, более предпочтительно, в интервале от 6,5 до 7,1 pH, а наиболее предпочтительно - pH 6,8. Предпочтительным вариантом является использование буферной системы, содержащей двухзамещенный фосфат натрия и однозамещенный фосфат натрия. Обычно для препарата, содержащего от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона, предпочтительным вариантом является использование буферной системы, приготовленной из монозамещенного/двухзамещенного фосфата натрия в концентрации 0,005-0,1 М. К другим пригодным буферным системам, обеспечивающим требуемое значение pH раствора на уровне от 4,5 до 7,1, относятся системы цитрат натрия/лимонная кислота и ацетат натрия/уксусная кислота.

В качестве агента, используемого для поддержания осмотичности растворов препаратов, являющихся объектом данного изобретения, может быть любое вещество, способное обеспечивать осмотичность представленных препаратов, соответствующую осмотичности сыворотки крови человека. Типичными агентами, используемыми для поддержания осмотичности раствора, являются хлористый натрий, маннит, глицин, глюкоза и сорбит. Использование в качестве агента, обеспечивающего осмотичность раствора хлористого натрия, является предпочтительным.

Количество агента, добавляемого для обеспечения осмотичности, находится в пределах от 1 до 10 мг/мл, при содержании α -интерферона в препаратах, являющихся объектом данного изобретения в интервале от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл. В препаратах, являющихся объектом данного изобретения и содержащих от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ/мл α -интерферона, предпочтительным является использование 7,5 мг/мл хлористого натрия.

Производные моно-9-октадеканата поли-(окси-1,2-этандинил)-сорбитана, такие как полисорбат-80 или полисорбат-20, используются в качестве стабилизирующих агентов, позволяющих предотвратить абсорбцию белков, относящихся к α -интерферонам, таких как α -2b интерферона, на поверхности оборудования, изготовленного из стекла или нержавеющей стали и используемого для получения указанных препаратов, содержащих α -интерфероны. Эффективное количество полисорбата-20 или полисорбата-80, добавляемое в препараты, согласно данному изобретению, содержащие от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл интерферона, находится в пределах от 0,01 до 1,0 мг/мл. Предпочтительным является использование полисорбата-80. Использование полисорбата-80 в концентрации 0,1 мг/мл, представляет собой наиболее предпочтительный вариант при использовании во всех растворах препаратов, являющихся объектом данного изобретения. Если концентрация α -интерферона, например, α -2b интерферона, не достигает 15×10^6 МЕ/мл (например, 6×10^6 МЕ/мл), потеря активности α -интерферона вследствие абсорбции его при отсутствии полисорбата-80 значительно снижает биологическую активность препарата. Неожиданно было обнаружено, что введение полисорбата-80, предотвращает потери α -2b интерферона и делает возможным системную дачу α -2b интерферона без потери его

биологической активности. В процессе разработки препаратов, являющихся объектом данного изобретения, неожиданно обнаружили, что наличие полисорбата-80 наилучшим образом, по сравнению с другими неионными поверхностно-активными веществами (ПАВ) (например Pluronic F127 и Pluronic F-68), обеспечивает химическую и биологическую стабильность α -2b интерферона.

Количество α -интерферона, используемое в препаратах, являющихся объектом настоящего изобретения, находится в пределах от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл, предпочтительно, от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ/мл.

Термин " α -интерферон", используемый в данной заявке, относится к классу высокомолекулярных видо-специфичных белков, способных подавлять репликацию вирусов, клеточную пролиферацию, а также модулировать иммунный ответ организма. Типичными α -интерферонами, обладающими указанными свойствами, являются α -2a-интерферон, такой как α -2a-интерферон RO-FERON, производимый фирмой Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J., α -2b-интерферон, такой как INTRON A α -2b-интерферон, производимой фирмой Schering Corporation, Kenilworth, N.J., α -2c-интерферон, такой как α -2a-интерферон RO-FERON, производимой фирмой Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, C.T., α -n1-интерферон, представляющий собой очищенную смесь природных α -интерферонов, например SUNIFERON, производимой фирмой The Wellcome Foundation Ltd., London, Great Britain, а также α -интерферон, содержащий типичную последовательность, предлагаемый Amgen, Inc., Newbury Park, California, или α -n3-интерферон, представляющий собой смесь природных α -интерферонов, производимых Interferon Sciences и предлагаемых Purdue Frederick Co., Norwalk, C.T., под товарным названием AL-FERON. Предпочтительным является использование α -2a-интерферона и α -2b-интерферона, а наиболее предпочтительным - α -2b-интерферона.

К консервантам, обладающим антимикробной активностью, и пригодным согласно настоящему изобретению, относятся мета-крезол, фенол, метилпарабен и пропилпарабен, а также смеси вышеуказанных консервантов, например смесь фенола и метилпарабена. Обнаружено, что эффективное количество мета-крезола, при добавлении в препараты, являющиеся объектом данного изобретения и содержащие от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона, находится в пределах от 0,5 до 2,0 мг/мл. Для использования в препаратах, содержащих от 5×10^6 до 50×10^6 МЕ/мл α -2b-интерферона, в особенности предпочтителен мета-крезол в концентрации 1,5 мг/мл.

Обнаружено, что эффективное количество фенола, используемого в качестве компонента препаратов растворов, содержащих от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона, составляет от 0,5 до 5 мг/мл.

Эффективное количество метилпарабена при использовании его в качестве компонента препаратов, являющихся предметом настоящего изобретения и содержащих от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -интерферона, находится в интервале от

0,6 до 1,8 мг/мл, а количество пропилпарабена - в интервале от 0,06 до 0,18 мг/мл

В качестве компонента препаратов, являющихся объектом данного изобретения и содержащих от $0,1 \times 10^6$ до 100×10^6 МЕ/мл α -2b-интерферона, наиболее предпочтительно использовать 1,2 мг/мл метилпарабена в комбинации с 0,12 мг/мл пропилпарабена

Использование мета-крезола в качестве консерванта, обладающего антимикробными свойствами, наиболее предпочтительно

При приготовлении препаратов, являющихся объектом данного изобретения, следует отдать предпочтение воде для инъекций

В процессе разработки препаратов в виде водных растворов, являющихся объектом данного изобретения, и способных в течение длительного периода хранения сохранять высокую биологическую активность, а также высокую химическую и физическую стабильность содержащегося в них α -интерферона в отсутствие обладающего стабилизирующим действием САЧ, установили, что количество производного моно-9-окатадеканата поли-(окси-1,2-этандинил)-сорбитана, такого как полисорбат-80, необходимого для стабилизации α -интерферона, оказывает непосредственное влияние на эффективное количество консерванта, обладающего антимикробной активностью. Это количество консерванта может быть добавлено в водные растворы препаратов для того, чтобы в соответствии с принятыми во всем мире требованиями органов здравоохранения, контролирующими регистрацию лекарственных препаратов, обеспечить необходимую защиту упомянутых растворов от микроорганизмов, не вызывая при этом нежелательного помутнения растворов

Таким образом, когда наиболее предпочтительный стабилизирующий агент, полисорбат-80, присутствовал в препаратах, являющихся объектом данного изобретения, и его наиболее предпочтительное эффективное количество составляло 0,1 мг/мл, эффективное количество наиболее предпочтительного консерванта с антимикробной активностью, например, мета-крезола, добавление которого в раствор не сопровождалось помут-

нением упомянутого раствора, являлось критическим. Например, если содержание мета-крезола, добавленного в раствор, содержащий 0,1 мг/мл полисорбата-80, как показано в примере 3, превосходило 1,75 мг/мл, (см. пример 3), происходило помутнение раствора. Аналогичная проблема, связанная с помутнением раствора, возникала, когда количество полисорбата-80 в препарате после добавления всех компонентов, оказывалось в пределах от 0,01 до 1 мг/мл. Помутнения раствора не происходило при добавлении 1,75 мг/мл или менее (предпочтительно около 1,5 мг/мл) мета-крезола в препарат, приготовленный согласно методике, указанной в примере 3, и содержащий 0,1 мг/мл полисорбата-80. Критическое состояние наблюдалось также в случае использования в качестве консервантов, обладающих антимикробной активностью, парабенов и фенола. Для того, чтобы избежать помутнения препаратов, являющихся объектом данного изобретения и содержащих от 0,01 до 1 мг/мл полисорбата-80, эффективное количество метилпарабена (при одновременном использовании в сочетании с пропилпарабеном в концентрации 0,12 мг/мл) не должно превосходить 1,2 мг/мл, а эффективное количество фенола (в случае использования его вместо парабенов) должно быть выше 0,5 мг/мл, но не достигать при этом 4 мг/мл

Препараты α -интерферона используются для лечения различных болезненных состояний, в том числе рака почки, СПИД - ассоциированной саркомы Капоши, хронического и острого гепатита В, хронического и острого гепатита ни А, ни В/С. Препараты, являющиеся объектом настоящего изобретения, имеют ценность для лечения этих заболеваний преимущественно в форме водных растворов для инъекций

Примеры

Приведенные ниже не ограничивающие объем изобретения примеры иллюстрируют приготовление водных растворов α -интерферонов

Методики, описанные после примера 5, используются для приготовления препаратов согласно данному изобретению, представленных в примерах 1-5

Пример 1

| | | |
|--|--|--|
| Активное вещество | α -2b-интерферон | $0,1 \times 10^6$ - 100×10^6 МЕ/мл* |
| Буферная система | Na-фосфатный буфер (однозамещенный/двухзамещенный) | 0,005-0,1 М |
| Хелатообразователь | ЭДТА динатрия | 0,01-1 мг/мл |
| Стабилизирующий агент | Полисорбат-80 | 0,01 - 1 мг/мл |
| Агент, обеспечивающий осмоотичность раствора | Хлорид натрия | 1 - 9 мг/мл |
| Консервант, обладающий антимикробной активностью | мета-крезол или фенол или метилпарабен + пропилпарабен | 0,5 - 1,75 мг/мл 0,5 - <4 мг/мл 0,6 - 1,2 мг/мл 0,06-0,12 мг/мл |
| Растворитель | Вода для инъекций, | до 1 мл |

* МЕ - Международные единицы

Пример 2

| | |
|--|----------------------------|
| α -2b интерферон | 10 x 10 ⁶ МЕ/мл |
| Безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 мг/мл |
| Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат | 1,3 мг/мл |
| ЭДТА динатрия | 0,1 мг/мл |
| Полисорбат 80 | 0,1 мг/мл |
| Метилпарабен | 1,2 мг/мл |
| Пропилпарабен | 0,12 мг/мл |
| Хлорид натрия | 7,5 мг/мл |
| Вода для инъекций | до 1 мл |

Пример 3

| | |
|--|-----------------------------|
| α -2b интерферон | 10 x 10 ⁶ МЕ/мл |
| Безводный двузамещенный фосфат натрия | 1,8 мг/мл |
| Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат | 1,3 мг/мл |
| ЭДТА динатрия | 0,1 мг/мл |
| Полисорбат 80 | 0,1 мг/мл |
| Мета-крезол | 1,5 мг/мл |
| Хлорид натрия | 7,5 мг/мл |
| Вода для инъекций | сколько потребуется до 1 мл |

Данные по стабильности препаратов, полученных из компонентов, указанных в примерах 2 и 3, представлены в табл. 1 и 2, соответственно

Пример 4

Препарат, состав которого указан в примере 3, был приготовлен с использованием 6 x 10⁶ МЕ/мл α -2b интерферона в соответствии с методом получения, подробно описанным ниже. Согласно этому методу, в процессе производства препарата осуществляют барботирование азота через раствор, а также продувание азотом пространства над раствором, таким образом, чтобы содержание кислорода в свободном пространстве над раствором, не превышало 4% по объему.

Флаконы, содержащие точный объем раствора (3 мл), хранили при температуре 30°C, 25°C и 4°C. Результаты суммированы в табл. 3.

Пример 5

Препарат, состав которого соответствует рецептуре примера 4, был приготовлен в точном соответствии с методом получения, подробно описанным ниже, за одним исключением: в данном случае барботирование азота через раствор и продувание азотом пространства над поверхностью раствора не производили. Содержание кислорода в свободном объеме над раствором составляло при этих условиях ≈20% по объему, что соответствует содержанию кислорода в атмосферном воздухе.

Флаконы, содержащие точный объем раствора (3 мл), хранили при температуре 30°C, 25°C и 4°C. Результаты суммированы в табл. 4.

Предполагается, что аналогичные результаты будут получены в случае использования вместо α -2b интерферона в примерах 1-5 эквивалентного количества ROFERON-A, WELLFERON или α -интерферон SUMIFERON.

Таблица 1
Данные по стабильности α -2b интерферона в препарате, приготовленном по примеру № 2

| Длительность хранения (месяцы) | Температура (°C) | Тест на антивирусную активность (Подавление ЦПД) | | Содержание белка (метод ВЖХ) | | Наличие твердых частиц (количество частиц на флакон) | | | Характеристика |
|--------------------------------|------------------|--|------------|------------------------------|--------------------|--|---------|---------|----------------|
| | | (x 10 ⁶ МЕ/мл) | (%, с.с.*) | (мкг/мл) | (в % от исходного) | ≥10 мкм | ≥25 мкм | ≥50 мкм | |
| Исходный момент времени | | 10,0 | 100 | 42,5 | 100 | 40 | 3 | 1 | ПБР** |
| 3 | 4 | 9,0 | 90 | 42,4 | 100 | 16 | 13 | 11 | ПБР |
| 6 | 4 | 10,0 | 100 | 41,8 | 98 | 8 | 3 | 1 | ПБР |
| 9 | 4 | 10,0 | 100 | 43,3 | 102 | 52 | 3 | 0 | ПБР |
| 12 | 4 | 10,0 | 100 | 44,3 | 104 | 17 | 4 | 2 | ПБР |
| 18 | 4 | 9,8 | 98 | 41,5 | 98 | 6 | 1 | 0 | ПБР |
| 24 | 4 | 10,0 | 100 | 39,5 | 93 | 5 | 1 | 0 | ПБР |

*с.с. - степень стабильности

**ПБР - прозрачный, бесцветный раствор, в котором практически отсутствуют видимые частицы

Таблица 2

Данные по стабильности α -2b интерферона в препарате, приготовленном по примеру № 3

| Длительность хранения (месяцы) | Температура (°C) | Тест на антивирусную активность (Подавление ЦПД) | | Содержание белка (метод ВЖХ) | | Наличие твердых частиц (количество частиц на флакон) | | | Характеристика |
|--------------------------------|------------------|--|----------|------------------------------|--------------------|--|--------------|--------------|----------------|
| | | ($\times 10^5$ МЕ/мл) | (% с.с.) | (мкг/мл) | (в % от исходного) | $\geq 10\mu$ | $\geq 25\mu$ | $\geq 50\mu$ | |
| Исходный момент времени | | 10,3 | 103 | 37,9 | 100 | 68 | 4 | 3 | ПБР** |
| 1 | 4 | 10 | 100 | 38,2 | 101 | 142 | 24 | 23 | ПБР |
| 3 | 4 | 10 | 100 | 38,9 | 103 | 311 | 63 | 35 | ПБР |
| 6 | 4 | 10 | 100 | 40,0 | 105 | 206 | 17 | 16 | ПБР |
| 9 | 4 | 10 | 100 | 37,1 | 97,9 | 211 | 109 | 50 | ПБР |
| 12 | 4 | 10 | 100 | 36,6 | 96,6 | 300 | 65 | 12 | ПБР |
| 15 | 4 | 10 | 100 | 36,1 | 95,3 | 123 | 8 | 6 | ПБР |

*с с - степень стабильности

**ПБР - прозрачный, бесцветный раствор, в котором практически отсутствуют видимые частицы

Таблица 3

Данные по стабильности α -2b интерферона в препарате, приготовленном по примеру № 4

| Длительность хранения (месяцы) | Температура (°C) | Положение флакона* | Тест на анти-вирусную активность (Подавление ЦПД) | | Содержание белка (метод ВЖХ) | | Тест на метакрезол | | pH | Наличие твердых частиц (количество частиц на флакон) | | | Характеристика |
|--------------------------------|------------------|--------------------|---|----------|------------------------------|--------------------|--------------------|----------|------|--|---------|---------|----------------|
| | | | (x 10 ⁶ МЕ/мл) | (% с.с.) | (мкг/мл) | (в % от исходного) | (мг/мл) | (% с.с.) | | ≥10 мкм | ≥25 мкм | ≥50 мкм | |
| Исходный момент времени | | | 6,48 | 108 | 25,7 | 100 | 1,47 | 98,0 | 6,91 | 23 | 2 | 0 | |
| 1 | 30 | В | 6,00 | 100 | 24,8 | 96,5 | 1,47 | 98,0 | 6,90 | 109 | 61 | 16 | ПБР** |
| | | П | 6,00 | 100 | 24,8 | 96,5 | 1,47 | 98,0 | 6,90 | 55 | 11 | 2 | ПБР |
| 3 | 4 | В | 6,00 | 100 | 23,5 | 91,4 | 1,46 | 97,3 | 6,88 | 29 | 2 | 0 | ПБР |
| | | П | 6,00 | 100 | 24,2 | 94,2 | 1,48 | 98,7 | 6,87 | 59 | 23 | 2 | ПБР |
| 3 | 25 | В | 6,00 | 100 | 21,7 | 84,4 | 1,43 | 95,3 | 6,88 | 141 | 76 | 17 | ПБР |
| | | П | 6,00 | 100 | 21,7 | 84,4 | 1,47 | 98,0 | 6,88 | 49 | 16 | 3 | ПБР |
| 6 | 4 | В | 6,00 | 100 | 24,6 | 95,7 | 1,46 | 97,3 | 6,84 | 59 | 21 | 3 | ПБР |
| | | П | 6,00 | 100 | 24,3 | 94,6 | 1,45 | 96,7 | 6,84 | 68 | 20 | 4 | ПБР |
| | 25 | В | 5,56 | 92,3 | 20,5 | 79,8 | 1,45 | 96,7 | 6,85 | 38 | 4 | 0 | ПБР |
| | | П | 6,00 | 100 | 20,4 | 79,4 | 1,44 | 96,0 | 6,85 | 57 | 8 | 0 | ПБР |
| 12 | 4 | В | 6,00 | 100 | 23,4 | 91,0 | 1,47 | 98,0 | 6,84 | 21 | 2 | 0 | ПБР |
| | | П | 6,00 | 100 | 23,4 | 91,0 | 1,46 | 97,3 | 6,84 | 18 | 2 | 0 | ПБР |

* В - вертикальное

П - перевёрнутое

**ПБР - прозрачный, бесцветный раствор, в котором практически отсутствуют видимые частицы

Таблица 4

Данные по стабильности α -2b интерферона в препарате, приготовленном по примеру № 5

| Длительность хранения (месяцы) | Температура (°C) | Положение флакона | Тест на анти-вирусную активность (Подавление ЦПД) | | Содержание белка (метод ВЖХ) | | Тест на мета-крезол | | | Наличие твердых частиц (количество частиц на флакон) | | | Характеристика | |
|--------------------------------|------------------|-------------------|---|----------|------------------------------|--------------------|---------------------|----------|------|--|--------|--------|----------------|------|
| | | | (х 10 ⁶ МЕ/мл) | (% с.с.) | (мкг/мл) | (в % от исходного) | (мг/мл) | (% с.с.) | pH | ≥10 мкм | ≥25мкм | ≥50мкм | | |
| Исходный момент времени | 1 | 30 | В | 6,00 | 100 | 25,5 | 100 | 1,47 | 98,0 | 6,85 | 144 | 4 | 4 | ПБР* |
| | | | | П | 6,00 | 100 | 19,5 | 76,5 | 1,49 | 99,3 | 6,82 | 89 | 3 | |
| 3 | 4 | В | 6,00 | 100 | 19,5 | 76,5 | 1,50 | 100 | 6,83 | 64 | 1 | 0 | ПБР | |
| | | | П | 6,00 | 100 | 24,0 | 94,1 | 1,43 | 95,3 | 6,81 | 39 | 1 | 0 | ПБР |
| 3 | 25 | В | 6,00 | 100 | 24,0 | 94,1 | 1,43 | 95,3 | 6,82 | 77 | 19 | 6 | ПБР | |
| | | | П | 6,00 | 100 | 20,2 | 79,2 | 1,39 | 92,7 | 6,82 | 57 | 1 | 0 | ПБР |
| 6 | 4 | В | 6,00 | 100 | 19,6 | 76,9 | 1,41 | 94,0 | 6,82 | 140 | 24 | 1 | ПБР | |
| | | | П | 6,00 | 100 | 24,6 | 96,5 | 1,47 | 98,0 | 6,82 | 66 | 1 | 0 | ПБР |
| | 25 | В | 6,00 | 100 | 24,6 | 96,5 | 1,47 | 98,0 | 6,83 | 220 | 87 | 27 | ПБР | |
| | | | П | 6,00 | 100 | 17,2 | 67,5 | 1,47 | 98,0 | 6,83 | 92 | 3 | 0 | ПБР |
| 12 | 4 | В | 6,00 | 100 | 16,1 | 63,1 | 1,48 | 98,7 | 6,84 | 241 | 5 | 0 | ПБР | |
| | | | П | 7,56 | 126 | 23,3 | 91,4 | 1,58 | 105 | 6,88 | 63 | 1 | 0 | ПБР |
| | | | П | 7,00 | 117 | 23,2 | 91,0 | 1,41 | 94,0 | 6,88 | 119 | 6 | 1 | ПБР |

*ПБР - прозрачный, бесцветный раствор, в котором практически отсутствуют видимые частицы

А Приготовление препаратов водных растворов, содержащих парабен, по примеру 2

1 Загружают приблизительно 80% воды для инъекций, имеющей температуру выше 70°C в подходящий для этих целей реакционный сосуд с двойными стенками, оснащенный мешалкой

2 Отдельно загружают приблизительно 30% воды для инъекций в другой подходящий сосуд. Воду охлаждают, и в дальнейшем поддерживают температуру воды в интервале от 20°C до 25°C. Приступают к продуванию фильтрованным азотом воды, которую предполагается использовать для доведения данной порции раствора до конечного объема, а также к насаиванию азота на поверхность этой воды, таким образом, чтобы содержание растворенного в воде кислорода поддерживалось на уровне, не превышающем 0,25 млн долей (0,000025%)

3 В реакционный сосуд, загруженный на 1-м этапе, добавляют метилпарабен и пропилпарабен и растворяют их, перемешивая раствор и поддерживая температуру в интервале 70-80°C

4 Охлаждают раствор, полученный на этапе 3, до температуры 20-25°C. Барботируют через раствор азот, одновременно напуская азот над поверхностью раствора

Поддерживают содержание растворенного кислорода на уровне, не превышающем 0,000025%

5 Вводят в раствор, полученный на этапе 4, следующие компоненты и растворяют их, переме-

шивая раствор и продолжая барботирование через раствор азота и напуск его над поверхностью раствора

Безводный двузамещенный фосфат натрия
Однозамещенный фосфат натрия, моногидрат

ЭДТА динатрия
Хлорид натрия

6 Прекращают барботаж через раствор, полученный на этапе 5. Продолжают напуск азота над раствором в реакционном сосуде

7 Загружают в отдельный сосуд приблизительно 50 мл воды для инъекций (конечный объем реакционной смеси составляет 1 л) и растворяют в ней полисорбат-80. Переносят раствор полисорбата-80 в раствор, полученный на этапе 6

8 Проверяют значение pH полученного раствора, которое должно быть в интервале от 6,6 до 7,0. Корректировку pH проводить не требуется

9 При перемешивании вводят основной объем раствора α -2b-интерферона в раствор, полученный на этапе 8

10 Для получения конечного объема реакционной смеси добавляют воду, подвергнутую барботированию азота (этап 2). Осторожно перемешивают раствор, до тех пор, пока он не станет однородным

11 В условиях соблюдения асептики, отфильтровывают раствор с помощью стерилизующего фильтра, предварительного промытого и

проверенного на целостность. Собирают стерилизованный раствор в простерилизованный сосуд, предварительно обработанный прошедшим через стерилизующий фильтр азотом. После фильтрации раствора следует проверить целостность фильтра.

12. После напуска стерильного азота на поверхность раствора в сосуде для хранения (этап 11), герметично укупоривают сосуд.

Б. Приготовление препаратов водных растворов, содержащих мета-крезол, по примеру 3.

Технология получения водных растворов препаратов, содержащих в качестве консерванта мета-крезол, (согласно примеру 3) в точности соответствует процессу, описанному выше, за исключением двух особенностей: температуру раствора, полученного на этапе 3, поддерживают на уровне 20-25°C, и мета-крезол вносят после завершения этапа 6.

В. Получение водных растворов препаратов альфа-интерферона, не содержащих САЧ, в условиях атмосферного воздуха.

Методика получения препаратов водных растворов, не содержащих САЧ, состав которых указан в примерах 1-4 в точности соответствует методике получения препаратов по примеру 5, за исключением того, что все этапы получения препарата проводят в условиях атмосферного воздуха, барботирование через раствор азота, а также напуск азота над поверхностью раствора не производится, и все свободное пространство над раствором занято атмосферным воздухом (содержащим обычно около 20% кислорода).

Для сохранения химической, биологической и физической стабильности растворов предпочтительно, чтобы вода, используемая для приготовления водных растворов, и полученные растворы α -интерферона, практически не содержали растворенного кислорода, а также, чтобы при получении и хранении водных растворов свободный объем над раствором был заполнен инертным газом, например азотом, так, чтобы концентрация кислорода в свободном пространстве не превышала 4 объемных процентов. Исползованный в данном случае термин "практическое отсутствие растворенного кислорода" означает, что содержание кислорода в растворе не должно превышать 0,25 млн долей (0,000025%), при температуре воды около 20-25°C. Как правило, для того, чтобы обеспечить такое предпочтительное содержание кислорода, составляющее 0,000025%, приемлемо продувание в течение достаточного времени (например, около 30 минут) инертного газа, например азота, через воду, используемую для приготовления водных растворов (температура которых поддерживается на уровне 20-25°C). Это позволяет снизить содержание растворенного кислорода приблизительно до 0,000025%. Чтобы поддержать содержание растворенного кислорода на уровне 0,000025%, барботирование продолжают в течение всей процедуры приготовления препарата. Установлено, что через 3 месяца хранения при температуре 25°C потери химической стабильности α -интерферона в водных растворах пре-

паратов, являющихся объектом настоящего изобретения и содержащих более 0,0001% растворенного кислорода и более 7% кислорода в свободном пространстве над раствором, значительно превосходят потери стабильности α -интерферона в аналогичных водных растворах препаратов, хранившихся при тех же условиях, в которых, однако, содержание растворенного кислорода соответствовало предпочтительному уровню 0,000025%, а содержание кислорода в свободном пространстве над раствором поддерживалось на уровне 4%.

Сравнение соответствующих данных по стабильности α -2b-интерферона, представленных в табл. 3 и 4, демонстрирует, что при хранении в течение 12 месяцев при 4°C не наблюдается существенного различия в стабильности водных растворов препаратов, являющихся объектом данного изобретения и приготовленных в атмосфере азота/низкого содержания кислорода (пример 4) и в условиях обычного атмосферного воздуха (пример 5). В противоположность этому, сравнение стабильности α -2b-интерферона в водных растворах, приготовленных согласно примерам 4 и 5 и хранившихся при более высоких температурах (25 и 30°C), демонстрирует защитное действие, достигнутое благодаря соблюдению предпочтительных условий получения препарата - при барботировании азотом, позволяющем поддерживать низкий уровень растворенного кислорода в водном растворе, и при одновременном поддержании содержания кислорода в свободном пространстве над раствором на уровне, не превышающем 4 объемных процентов.

Водные растворы препаратов, являющихся предметом настоящего изобретения, можно хранить в любых подходящих для этой цели чистых и стерилизованных сосудах или контейнерах, например, стеклянных флаконах типа I объемом 2 мл и 5 мл, укупориваемых серыми бутил-каучуковыми пробками. Допускается также хранение водных растворов препаратов, являющихся предметом настоящего изобретения, в предварительно заполненных шприцах, содержащих несколько доз препарата, наподобие шприцев, используемых для выпуска растворов лекарств, например, инсулина. Типичные пригодные для этих целей шприцы представляют собой системы, в состав которых входит флакон, заполненный лекарственным препаратом при выпуске, в комплекте с шприцем-ручкой, например Novolet Novo Pen, выпускаемый фирмой Novo Nordisk. Типичные пригодные для этих целей системы представляют собой шприцы, позволяющие пользователю устанавливать шприц на введение точных воспроизводимых доз лекарственного средства, и без проблем и посторонней помощи делать инъекции. Возможна лиофилизация водных растворов препаратов, являющихся предметом настоящего изобретения, подобных описанным в примерах, с образованием порошка, который перед применением растворяют в воде. Предполагается, что лиофилизированный порошок α -интерферона сохраняет химическую и биологическую стабильность при температуре хранения от 2 до 8°C в течение по крайней мере 2-х лет.

Тираж 50 екз
Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
