



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 169 555** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **A 61 K 9/19, 31/4738, 47/44**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 97107856/14, 11.10.1995

(24) Дата начала действия патента: 11.10.1995

(30) Приоритет: 14.10.1994 US 08/323,081

(43) Дата публикации заявки: 10.05.1999

(46) Дата публикации: 27.06.2001

(56) Ссылки: US 4311712 A, 19.01.1982; SU 774555 A, 30.10.1980; US 5227380 A, 13.07.1993; BURKE TG, Lipid bilayer partitioning and stability of camptothecin drugs, Biochemistry 1993, May 25, 32 (20): 5352-64.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 14.05.1997

(86) Заявка РСТ:
US 95/14105 (11.10.1995)

(87) Публикация РСТ:
WO 96/11669 (25.04.1996)

(98) Адрес для переписки:
119034, Москва, Пречистенский переулок,
д. 14, стр. 1, 4 этаж, "Гоулингз Интернэшнл
Инк.", Дементьеву В.Н.

(71) Заявитель:

ИДЕК ФАРМАСЬЮТИКАЛС КОРПОРЕЙШН
(US)

(72) Изобретатель: ЧЕРИАН Мэтью (US) ✓

(73) Патентообладатель:

ИДЕК ФАРМАСЬЮТИКАЛС КОРПОРЕЙШН
(US)

(74) Патентный поверенный:

Дементьев Владимир Николаевич

WO

(54) **ЛИОФИЛИЗАТ ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА ВОДОНЕРАСТВОРИМОГО КАМПТОТЕЦИНА**

(57)

Изобретение относится к медицине. Фармацевтическая композиция содержит лиофилизат водонерастворимого комплекса

каптотецина и фосфолипида и фармацевтически приемлемый наполнитель. Предложенная композиция более стабильна. 14 з.п.ф-лы. 3 табл.

RU 2 169 555 C2

RU 2 169 555 C2



(19) **RU** (11) **2 169 555** (13) **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 9/19, 31/4738, 47/44**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 97107856/14, 11.10.1995
(24) Effective date for property rights: 11.10.1995
(30) Priority: 14.10.1994 US 08/323,081
(43) Application published: 10.05.1999
(46) Date of publication: 27.06.2001
(85) Commencement of national phase: 14.05.1997
(86) PCT application:
US 95/14105 (11.10.1995)
(87) PCT publication:
WO 96/11669 (25.04.1996)
(98) Mail address:
119034, Moskva, Prechistenskij pereulok,
d.14, str. 1, 4 ehtazh, "Goulingz
Internehshnl Ink.", Dement'evu V.N.

(71) Applicant:
IDEK FARMAS'JuTIKALS KORPOREJShN (US)
(72) Inventor: ChERIAN Meht'ju (US)
(73) Proprietor:
IDEK FARMAS'JuTIKALS KORPOREJShN (US)
(74) Representative:
Dement'ev Vladimir Nikolaevich

(54) **LYOPHILIZED LIPID COMPLEX OF WATER-INSOLUBLE CAMPTOTHECIN**

(57) Abstract:
FIELD: medicine, pharmacy. SUBSTANCE:
invention proposes a pharmaceutical
composition containing lyophilized water-

-insoluble complex of camptothecin and
phospholipid and pharmaceutically acceptable
vehicle. EFFECT: improved stability of
composition. 15 cl, 3 tbl

RU 2 169 555 C2

RU 2 169 555 C2

Данное изобретение относится к фармацевтически приемлемой дозированной форме водонерастворимых камптотецинов и, более конкретно, 9-амино-20(S)-камптотецина (далее 9-АС) и 9-амино-20(R)-камптотецина, которые могут быть разведены и введены пациенту внутривенно или подкожно или же введены в состав для орального применения при лечении рака и других болезней.

Камптотецин и его аналоги проявляют антиопухолевую активность по отношению к раку толстой кишки, лейкемии, и экспериментально трансплантированной карциноме, такой как лейкемия L-1210 у мышей или опухоли Walker 256 у крыс (см. Potsmiesel, M., DNA Topoisomerases in Cancer). Камптотецин представляет собой пентациклический алкалоид, включающий характерную конденсированную 5-циклическую систему хинолина (кольца А и В), пиридина (кольцо С), α -пиридона (кольцо D) и шестичленного лактона (кольцо Е). Целое кольцо лактона (кольцо Е) и гидроксильная группа в положении 20, как было установлено, отвечают за его противоопухолевую активность.

Изучение аналогов камптотецина позволило предположить корреляцию между способностью соединения вызывать разрыв ДНК и его противоопухолевой активностью. Он обладает уникальным механизмом действия, который приводит к разрыву ДНК в присутствии топоизомера I, мономерного фермента, который способен изменять топологию ДНК в эукариотических клетках.

Топоизомераза I соединяется с ДНК, что приводит к раскручиванию двойной спирали и затем изгибает разрыв до диссоциации от цепи ДНК.

Полагают, что камптотецин связывается и стабилизирует ковалентный комплекс ДНК-топоизомераза I, в котором одна цепь ДНК спирали разорвана, и тем самым предотвращает рекомбинацию ДНК.

Терапевтическое применение камптотецина и его аналогов очень ограничивается их плохой растворимостью в воде и высокой токсичностью.

Был сделан ряд попыток снизить токсичность камптотецина без уменьшения его противоопухолевой активности путем получения его производных.

Были исследованы производные камптотецина, замещенные в 5-, 7-, 9-, 10- и 11-положениях. По меньшей мере три производных камптотецина, а именно 7-этил-[14-(1-пиперидино)-1-пиперидин] карбонилосикамптотецин (CPT-11); 20-(S)-камптотецин; 10-[(диметиламино)-метил]-4-этил-4,9-дигидрокси-1H-пирано-[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-3,14-(4H,12H)дион монохлорид (топотекан гидрохлорид) и 9-амино-20(S)-камптотецин, находятся на различных стадиях клинического исследования.

9-АС практически не растворяется в воде (0,002 мг/мл). Это затрудняет приготовление его в виде стерильной, стабильной при хранении дозированной формы. В процессе исследований, проведенных National Cancer Institute (NCI) 9-АС приготавливали в органическом растворителе, диметилацетамиде (DMA) для того, чтобы преодолеть ограничения в растворимости лекарства.

Препарат содержит 5 мг 9-АС в 1 мл DMA. В момент применения продукт разводят растворителем, содержащим полиэтиленгликоль 400, фармакопея США, и фосфорную кислоту.

Разбавитель добавляют к препарату NCI в количестве 49 мл на 1 мл препарата.

Препарат NCI имеет недостатки, которые делают его неудобным для коммерческого применения. Поскольку DMA действует на резиновые пробки, продукт нельзя поставлять в закупоренных флаконах, а нужно поставлять в ампулах.

Ампулы неудобны для применения, так как их нужно подпиливать и разбивать при открывании, а это может быть причиной ранений и загрязнений у персонала. Кроме того, нужно отфильтровывать осколки стекла, образовавшиеся при открывании ампул.

DMA является нежелательным средством для внутривенного (BV) введения и служит потенциальным источником побочных токсичных эффектов. LD₅₀ диметилацетамида (DMA) равна 5,4 мл/кг, этот фактор также следует учитывать при введении лекарства.

Другой подход к созданию дозированных форм камптотецина, который был разработан, заключается в применении липосом. T.G.Burke et al. в Biochemistry 1993, 32, 5352-64 (1993) предложили применять липосомы в качестве системы для введения камптотецина.

Burke et al. обнаружили, что камптотецин соединяется с

димиристилфосфатидилглицериновыми (ДМФГ) липидами и димиристилфосфатидилхолиновыми (ДМФХ) липидами и стабилен и в ДМФГ, и в ДМФХ липосомных двухслойных слоях. Они способствуют проникновению лактонного кольца в липосомный слой. Ассоциированный с липосомами камптотецин стабилизирует лактонное кольцо.

В настоящее время нет фармацевтически приемлемых препаратов на основе 9-АС для введения человеку. Существует необходимость в создании стабильной фармацевтической дозированной формы, которую удобно вводить больному раком и которая сохраняет структурные элементы, существенные для фармакологической активности 9-АС.

Сущность изобретения

Цель данного изобретения заключается в создании фармацевтически приемлемой дозированной формы 9-АС или другого водонерастворимого камптотецина. Другой

целью данного изобретения является получение липидных комплексов 9-АС и других водонерастворимых камптотецинов.

Еще одной целью данного изобретения является получение лиофилизатов трех липидных комплексов. Леофилизат можно развести водой, физиологическим раствором или другим электролитом для получения коллоидной дисперсии для внутривенного введения или же на его основе можно получить пасту или капсулы с мягкой или жесткой оболочкой из желатина для орального введения. Ранее камптотецины не вводили подкожно, так как они вызывают омертвление ткани. Однако оказалось, что липидный комплекс может в достаточной степени замедлить выделение водонерастворимых камптотецинов, что дает возможность осуществлять подкожное введение.

Хотя далее изобретение будет описано на примере получения липидных комплексов и леофилизатов липидных комплексов 9-АС, специалистам очевидно, что способы, раскрытые в данном описании, также применимы для приготовления липидных комплексов и леофилизатов других камптотецинов, которые являются водонерастворимыми, как сам камптотецин.

В соответствии с данным изобретением получают леофилизат фосфолипидного комплекса 9-АС, который может быть разведен фармацевтически приемлемым водным разбавителем, например водой для инъекции, и который по сравнению с растворами 9-АС в диметилацетамиде менее токсичен, более стабилен и, что особенно важно, приготовление и применение которого не лимитировано растворимостью 9-АС.

В соответствии с изобретением леофилизат получают способом, включающим стадии приготовления раствора 9-АС в первом органическом растворителе, приготовления раствора фосфолипида во втором органическом растворителе, смешения раствора фосфолипида и раствора 9-АС, добавления воды к смешанным растворам для образования липидного комплекса 9-АС, удаления первого и второго органических растворителей для получения дисперсии липидного комплекса в воде в качестве водной фазы, растворения фармацевтически приемлемого наполнителя в водной фазе дисперсии и леофилизации дисперсии липидного комплекса с образованием леофилизата. Этот леофилизат образует коллоидную дисперсию при разведении физиологически приемлемым водным разбавителем.

В соответствии с предпочтительным вариантом данного изобретения леофилизат получают способом, включающим стадии приготовления концентрированного раствора 9-АС в диметилсульфоксиде, получения концентрированного раствора фосфолипидов ДМФХ и ДМФГ в хлороформе, смешения раствора фосфолипида и раствора 9-АС и

получения дисперсии липидного комплекса в воде в качестве водной фазы, разбрызгивания и диафильтрации дисперсии для удаления растворителей, уменьшения размера частиц дисперсии липидного комплекса, добавления водного раствора маннита в качестве фармацевтически приемлемого наполнителя леофилизации к дисперсии и леофилизации, причем получают леофилизат, который при разведении водой обеспечивает получение коллоидной дисперсии липидного комплекса 9-АС.

В соответствии с другим вариантом данного изобретения получают леофилизированную композицию, содержащую 9-аминокамптотецин или другой водонерастворимый камптотецин, которая включает 9-АС, фосфолипид и фармацевтически приемлемый леофилизационный наполнитель.

Подробное описание изобретения

Используемый в данной заявке термин "водонерастворимый камптотецин" означает камптотецин или другой пентациклический алкалоид, содержащий вышеупомянутую конденсированную 5-циклическую систему камптотецина, растворимость которого в воде менее 0,01 мг/мл при 23°C.

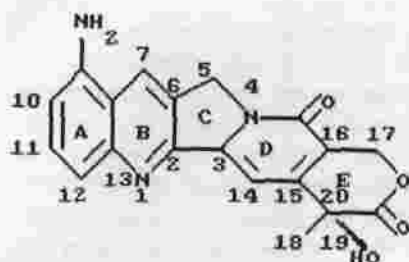
Термин "липидный комплекс" является признанным в данной области. Липидные комплексы характеризуются нековалентной связью между липидом и камптотецином, которая проявляется в виде фазового изменения в дифференциальной сканирующей калориметрии.

Термин "фармацевтически приемлемый водный разбавитель" относится к воде, используемой для инъекций, физиологическому раствору и другим известным водным средствам для введения в организм лекарства.

Термин "лиофилизационный наполнитель" относится к веществу, которое добавляется к раствору до леофилизации для улучшения свойств, таких как цвет, строение, прочность и объем осадка. Примеры таких наполнителей приведены ниже.

9-АС получали восстановлением 9-нитрокамптотецина восстановителем, таким как смесь слова или железа с минеральной кислотой (см. патент США 4604463, Miyazaka et al). Получение 9-амино-20(S)-камптотецина и 9-амино-20(R,S)-камптотецина описано в патентах США 5106742 и 5225404. Другие водонерастворимые камптотецины известны, и их получение описано в литературе.

9-амино-20(S)-камптотецин имеет формулу $C_{20}H_{17}N_3O_4$ и структуру



В соответствии с изобретением готовят концентрированный раствор 9-АС в органическом растворителе. Наиболее типичным растворителем, используемым для приготовления этого раствора, является диметилсульфоксид (ДМСО).

Однако можно использовать и другие органические растворители, например диметилформамид. Пригодные растворители должны образовывать стабильные растворы с аналогом камптотецина, например растворитель не должен взаимодействовать, дестабилизировать и/или дезактивировать лекарство. Кроме того, растворимость аналога камптотецина в растворителе должна быть довольно высокой, чтобы аналог камптотецина растворялся в достаточно больших количествах с получением коммерчески пригодных количеств липидного комплекса, и растворитель должен быть способен легко удаляться из водной дисперсии липидного комплекса, как описано ниже. Предпочтительно использовать раствор, имеющий концентрацию камптотецина примерно 5-50 мг/л, предпочтительнее примерно 20-40 мг/л и наиболее предпочтительно 40 мг/мл. Концентрация может меняться в зависимости от природы растворителя и температуры, но важно при приготовлении комплекса

жидкость/камптотексин использовать концентрированный раствор камптотецина. Это уменьшает количество растворителя, которое должно быть удалено позже, а также помогает переходу камптотецина из раствора в образующийся с липидом комплекс жидкость/камптотексин при добавлении воды.

Органический растворитель, используемый для приготовления раствора фосфолипидов, должен отвечать тем же требованиям, что и растворитель для растворения камптотецина. Он должен быть совместимым с фосфолипидами и не должен дестабилизировать их или камптотецины. Кроме того, липиды должны быть достаточно растворимы в растворителе, чтобы быть способными ввести достаточное количество липида с образованием комплекса и уменьшить количество растворителя, которое должно быть позднее удалено.

Наиболее предпочтительным является растворитель, который может быть легко удален из дисперсии липидного комплекса. Растворителем, наиболее часто используемым для приготовления этого раствора, является хлороформ или

метилхлорид. Обычно концентрация этого раствора фосфолипида равна примерно 10-250 мг/мл.

Фосфолипиды являются амфипатическими по природе, т.е. молекулы имеют гидрофобный хвост, такой как длинноцепочечный углеводородный радикал, и гидрофильную основу.

В водной среде, такой как вода или физиологический раствор, хвосты выравниваются, отворачиваясь от молекул воды, в то время как основа молекул обращается внутрь водной фазы.

Именно такая природа фосфолипидов делает их очень полезными для приготовления нерастворимых лекарств типа 9-АС.

Фосфолипиды, используемые согласно данному изобретению, выбираются таким образом, чтобы их температура фазового перехода была примерно равна или ниже температуры тела, равной 37°C, и комплекс выделял лекарство в теле пациента. Представителями пригодных фосфолипидов являются синтетические фосфолипиды ДМФХ, ДМФГ, дипальмитилфосфатидилхолин (ДПФХ), дипальмитилфосфатидилглицерин (ДПФГ), дистеарилфосфатидилхолин (ДСФХ) или дистеарилфосфатидилглицерин (ДСФГ) или их смеси. Другие примеры фосфолипидов можно найти в CRC Handbook of Lipid Bilayers by Marsh, M.A., CRC Press (1990). Когда ДМФХ и ДМФГ используют в отношении ДМФХ к ДМФГ примерно 7:3, они имитируют клеточную мембрану.

Раствор липида добавляют к раствору 9-АС таким образом, чтобы весовое отношение 9-АС к липиду равнялось примерно 1:80-1:5, предпочтительно примерно 1:80-1:10, более предпочтительно, примерно 1:60-1:10 и, еще более предпочтительно, примерно 1:45-1:25.

В некоторых областях применения желательно к липидному комплексу добавлять холестерин или его гемисукцинатные производные. Считают, что холестерин приводит к более плотной упаковке двухслойных частиц и тем самым к замедлению выделения лекарства. Это может быть особенно желательно в случае подкожных препаратов, где может произойти сильное омертвление ткани, если лекарство доставляется слишком быстро. Холестерин вводят в раствор фосфолипида. Холестерин может быть использован в количестве от примерно 0,5 до 15 частей на 100 частей фосфолипида.

Как только растворы в растворителях липидов и камптотецина будут смешаны, к смеси быстро при перемешивании в течение нескольких минут добавляют воду или водный раствор. Полагают, что добавление воды приводит к выделению 9-АС и липида из их раствора в растворителях и образованию комплекса друг с другом. Воду предпочтительно добавлять в таком

количестве, чтобы содержание 9-АС составляло примерно 0,05-0,5 мг на 100 мл воды. Желательно ограничить количество воды, чтобы уменьшить то количество воды, которое должно быть удалено во время лиофилизации.

Большее содержание воды нежелательно, так как оно приводит к увеличению количества воды, которое должно быть удалено во время последующей лиофилизации.

Считается, что образование комплекса завершается через примерно 30 мин. Однако желательно перемешивать дисперсию в течение примерно одного часа, чтобы обеспечить окончание комплексообразования.

Дисперсию липидного комплекса, описанную выше, обрабатывают для удаления растворителей. Для этой цели можно использовать любую из имеющихся методик. Например, было установлено, что хлороформ может быть удален, если дисперсию продувают газом, например азотом. Для удаления ДМСО используют метод диафильтрации (также известный как метод фильтрации с тангенциальным потоком). Можно использовать патрон с трубками из полого волокна с порами размером 5-150 кДа. Диафильтрационный патрон доступен из A/G Technology Corporation of Needham Massachusetts, под товарным знаком XPRESS. Можно использовать другие методы, включая центрифугирование.

Фармацевтически приемлемый наполнитель растворяют в водной фазе дисперсии. Обычно используют в качестве наполнителя маннит, но можно применять другие наполнители, которые не взаимодействуют с лекарством или липидным комплексом. Типичные примеры наполнителей, которые считаются также пригодными для использования, включают фосфаты натрия или калия, лимонную кислоту, винную кислоту, желатин и углеводороды, так же как маннит, лактоза, декстроза, декстран, гетакрахмал и т.д. Наполнители могут быть использованы в отдельности или в смеси друг с другом для получения порошка хорошего качества, который легко диспергируется в воде при разведении.

Наполнители обычно добавляют к дисперсии в виде растворов в воде. Опять-таки желательно применять концентрированные растворы, чтобы свести к минимуму количество воды, удаляемое в процессе лиофилизации.

Количество наполнителя регулируют таким образом, чтобы получить осадок, который не растрескивается или не усаживается, и который является пористым и легко растворяется и имеет хороший вид. Установлено, что пригодным является маннит. Маннит вводят в дисперсию в виде раствора с концентрацией примерно 5-15 г/мл.

Маннит добавляют в количестве примерно 1-100 вес.ч. на 1 ч. 9-АС.

После удаления растворителей и добавления наполнителя дисперсию пропускают через гомогенизатор (например, роторно/статорный гомогенизатор Tekmar, Model T25 или струйный гомогенизатор с микрожидкостным погружением, Model M110Y). Как правило, чем меньше размер частиц дисперсии, тем быстрее может быть высушен состав во время лиофилизации. Было установлено, что для лиофилизации наиболее подходящей является дисперсия, содержащая частицы с распределением по размерам от примерно 10 до 500 нм и в среднем размером около 250 нм. Оптимальный размер частиц может меняться в зависимости от способа введения лекарства.

Типичный цикл лиофилизации, используемый в соответствии с данным изобретением, описан ниже.

Цикл может меняться в зависимости от оборудования и доступных средств, что хорошо известно из уровня техники.

Гомогенизированный препарат можно разлить по флаконам объемом от 5 до 50 мл. Флаконы помещают в лиофилизационную камеру при температуре около 5°C. Размер флакона подбирается с таким расчетом, чтобы в нем содержалась одна доза 9-АС. Температуру в камере снижают до -30°C в течение 1 ч, после чего температуру поддерживают равной -30°C в течение примерно четырех часов. Давление в лиофилизационной камере затем снижают до 200-250 мк давления для остального цикла. После снижения давления в камере температура повышается в течение 15 ч до +25°C, и продукт выдерживают при 25°C в течение 5 часов. Затем температуру повышают до +40°C в течение 20 мин и выдерживают флаконы при 40°C в течение 2 ч. Лيوфилизированный продукт характеризуется содержанием влаги менее примерно 5%, обычно примерно 1-2%.

Для внутривенного или подкожного введения лиофилизат может быть разведен с использованием таких водных сред, как вода, физиологический раствор или другой электролит. При добавлении воды лиофилизированный продукт образует коллоидную дисперсию липидного комплекса в водном растворе наполнителя.

Ни 9-АС, ни липиды не растворяются в воде. Коллоидная дисперсия состоит по меньшей мере из двух дискретных фаз.

Первая фаза - это дисперсная или внутренняя фаза. Вторая представляет собой непрерывную или внешнюю фазу.

Системы в коллоидном состоянии содержат одно или несколько веществ, которые имеют по меньшей мере один размер в пределах от 10-100 ангстрем до нескольких микрон. См. р.р. 272-4 в Chapter 19, Disperse Systems, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA 18042.

В коллоидных дисперсиях согласно данному изобретению дисперсная или внутренняя фаза состоит из частиц липидного комплекса 9-АС с частицами размером в пределах от 10 нм до 1000 нм. При выборе водного средства рекомендуется использовать такое, которое имеет удельный вес, примерно равный удельному весу липидного комплекса (примерно 1,09 г/см³) для сведения к минимуму тенденции дисперсии к разделению фаз. Лиофилизат липидного комплекса можно разводить водой, физиологическим раствором или другим фармацевтически приемлемым водным разбавителем для внутривенного введения. При разбавлении получают дисперсию, пригодную для инъекции.

Лиофилизат можно также применять перорально в виде водной дисперсии или пасты. В то время как обычно камптотецины не вводят подкожно, поскольку они вызывают омертвление тканей, было замечено, что липид замедляет выделение камптотецина в ткань, что делает возможным подкожное введение липидного комплекса.

Для перорального применения лиофилизат можно разбавлять с образованием дисперсии или же готовить пасту. Кроме того, можно лиофилизат инкапсулировать в мягкие желатиновые капсулы, применяемые для приема перорально.

Подходящие дозы для 9-АС и камптотецинов колеблются от примерно 35 до 250 мг/м² в час. Предпочтительно применять лекарство при непрерывном вливании в течение 3-21 дней с использованием программируемого амбулаторного насоса для непрерывного вливания. Лекарство лучше вводить с фактором стимуляции колонии гранулоцитов (G-CSF).

Хотя в данной заявке утверждается, что комплекс липид/камптотексин нужно лиофилизировать для повышения его стабильности, следует иметь в виду, что комплекс липид/камптотексин является фармацевтически активным и на его основе можно приготовить дозированную форму для орального, внутривенного или подкожного введения без проведения лиофилизации. Вспомогательные добавки, такие как антимикробные вещества и антиоксиданты, могут быть использованы для повышения стабильности комплекса.

Ниже изобретение будет описано более подробно со ссылкой на следующие примеры, не ограничивающие изобретение.

Примеры 1-8

Приготавливают лиофилизаты 9-АС, используя растворители, фосфолипиды и носители в количествах, указанных в таблице 1. В каждом случае растворы готовят, растворяя указанные количества 9-АС в ДМСО, и растворяя ДМФХ и ДМФГ в хлороформе. Растворы смешивают и добавляют воду для инъекции. Полученные растворы перемешивают примерно в течение одного часа и удаляют хлороформ, продувая в

течение примерно 95 мин азот. ДМСО удаляют центрифугированием дисперсии, удалением надосадочной жидкости и повторным суспендированием "комка" в воде для инъекции. (В некоторых примерах для удаления ДМСО используют фильтры с тангенциальным потоком Millipore или AG Technology).

Водный раствор наполнителя добавляют к дисперсии и гомогенизируют ее с использованием гомогенизатора ULTRA TURREX, работающего со скоростью примерно 10000 об/мин при комнатной температуре. Гомогенные продукты подвергают лиофилизации, как описано выше или подобным образом.

Лиофилизат, полученный в примере 1, используют для испытания стабильности. Первоначальный анализ показывает величину 0,299 мг 9-АС на флакон. Результаты испытаний приведены в таблице 2.

Результаты испытаний показывают отсутствие ухудшения свойств лиофилизата комплекса липид/камптотексин.

Пример 9

Опыты на животных показали, что лиофилизаты 9-АС по изобретению проявляют противоопухолевую активность *in vivo*. Коллоидные дисперсии лиофилизата готовят путем диспергирования 1 мг лиофилизата по примеру 6 в 10 мл воды для инъекции.

Дисперсии испытывают на трансплантатах опухоли HT29 в прямой кишке человека у женских особей атимических мышей. Используют внутривенное и пероральное введение. Трансплантаты опухоли растут до примерно 200 мг до начала химиотерапии. Сравнение испытаний проводят на основе времени (дней), требуемого для трех двукратных увеличений опухоли (TTTD). Результаты приведены в таблице 3. Во время первого курса лечения в препарате содержалась большая концентрация цитрата, что привело к смертности, с большой вероятностью обусловленной природой средства, в котором вводится лекарство, при самых больших внутривенных (В.В.) дозах. Препарат проявлял активность по схеме Q2D x 14 при отсутствии токсичности.

Данное изобретение описано подробно со ссылкой на предпочтительные примеры, однако очевидно, что можно осуществить его модификации и изменения, не выходя за рамки изобретения, объем которого определен нижеследующей формулой изобретения.

Формула изобретения:

1. Фармацевтическая композиция, содержащая лиофилизат водонерастворимого камптотецина, фосфолипид и фармацевтически приемлемый лиофилизационный носитель, отличающаяся тем, что камптотексин и фосфолипид представляют собой липидный комплекс.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем,

что образует коллоидную дисперсию при разбавлении физиологически приемлемым водным разбавителем.

3. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что фосфолипид выбран из группы, включающей димиристилфосфатидилхолин, димиристилфосфатидилглицерин, дипальмитилфосфатидилглицерин, дистеарилфосфатидилхолин, дистеарилфосфатидилглицерин и любую их смесь.

4. Композиция по п.3, отличающаяся тем, что фосфолипид представляет собой смесь димиристилфосфатидилхолина и димиристилфосфатидилглицерина.

5. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что димиристилфосфатидилхолин содержится в весовом отношении к димиристилфосфатидилглицерину, равном примерно 7 : 3.

6. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что отношение камптотецина к фосфолипиду равно примерно от 1 : 80 до 1 : 5.

7. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что носитель представляет собой маннит.

8. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что водонерастворимый камптотецин представляет собой 9-аминокамптотецин.

9. Композиция по п.8, отличающаяся тем, что 9-аминокамптотецин представляет собой 9-амино-20-(S)-камптотецин.

10. Композиция по п.8, отличающаяся тем, что 9-аминокамптотецин представляет собой 9-амино-20-(R,S)-камптотецин.

11. Композиция по п.1, которая пригодна для внутривенного вливания.

12. Композиция по п.1, которая пригодна для введения перорально.

13. Композиция по п.1, которая пригодна для подкожного введения.

14. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что дополнительно содержит холестерин.

15. Композиция по п.2, в которой разбавитель обладает удельным весом, примерно равным удельному весу липидного комплекса.

25

30

35

40

45

50

55

60

Таблица 1

Пример №	1	2	3	4	5	6	7	8
9-АС	0,4 мг	0,4 мг	0,4 мг	0,4 мг	0,4 мг	0,4 мг	0,2 мг	0,2 мг
ДМСО	0,01 мл	0,01 мл	0,01 мл	8,7 мл	8,7 мл	10 мл	5 мл	5 мл
ДМФХ	26 мг	24,2 мг	3,0 мг	22,4 мг	22,4 мг	22,4 мг	11,2 мг	8 мг
ДМФГ	11,3 мг	10,4 мг	1,25 мг	9,6 мг	9,6 мг	9,6 мг	4,8 мг	8 мг
Хлороформ	0,25 мл	0,25 мл	0,31 мл	0,2 мл	0,2 мл	0,2 мл	0,1 мл	0,1 мл
Маннит	15,1 мг	14,55 мг	14 мг	15 мг	15 мг	20 мг	20 мг	20 мг
Цитрат натрия					8,9 мг	8,9 мг		
Лимонная кислота					14,7 мг	14,7 мг		
Вода для инъекций								
Липофилизат	0,4 мг/флакон	0,4 мг/флакон	0,4 мг/флакон	0,2 мг/флакон	0,2 мг/флакон	0,2 мг/флакон	2 мг/флакон	1 мг/флакон

Таблица 2

Процент от первоначального содержания

	4°C	27°C	37°C
1 неделя	99,3	97,7	99,7
2 недели	100,3	103,3	104,3
1 месяц	103,7	97,7	102,3
2 месяца	101	102,3	102,3
5 месяцев	106,4	105,7	104,7
7 месяцев	106,4	104,2	- - -

Таблица 3

В.В. и П.О. Активность 9-АС на HT29 ксенотрансплантате

Схема	CDF		
	мг/кг Доза	TTTD	Смертные случаи
В.В. болюс Q4Dx6 6 доз	0	26,8	0
	1,8	34,2	0
	2,7	38,9	2а
	4,0	25,3	6а
В.В. болюс Q4Dx6 Дней 12,19,26 12 доз	0	26,3	0
	0,9	35,4	0
	1,33	46,4 ^с	2в
	2,0	50,9	7 ^в
П.О. Q2Dx14	0	27,0	0
	0,67	35,6	0
	1,0	33,7	0
	1,5	42,8	0

CDF = состав коллоидной дисперсии (состав липида)

TTTD = Время (дни) для 2X увеличения размера опухоли

Начало лечения: 12 день для ВВ; 13 день для перорального введения, число особей = 10/группу

а = Первая доза или препарат, содержащий цитратный буфер. Большая часть гибели мышей обусловлена природой среды для введения лекарства. Вторая и остальные дозы не содержали цитрата.

в = Первый курс введения ДМСО/интралипида, содержащего цитратный буфер. Большая часть случаев гибели обусловлена природой среды. Вторым и третьим курсы использовали препарат, не содержащий цитрата.

с = 1 частичная регрессия.