



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77295** (13) **C2**  
(51) **МПК (2006)**  
**A61K 47/48**  
**C07D 491/147 (2006.01)**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

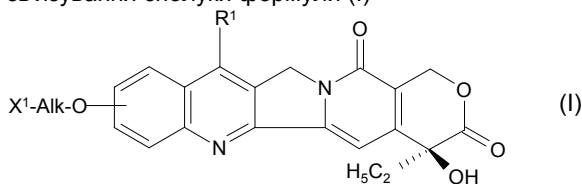
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) РІДКИЙ ПРЕПАРАТ, ЩО МІСТИТЬ ПОХІДНЕ КАМПОТЕЦИНУ, ТА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ, ЯКУ МОЖНА ОДЕРЖАТИ ШЛЯХОМ ЛІОФІЛІЗАЦІЇ ЦЬОГО ПРЕПАРАТУ

1

- (21) 20041109367  
(22) 15.04.2003  
(24) 15.11.2006  
(86) PCT/JP03/04745, 15.04.2003  
(31) NO.2002-112864  
(32) 16.04.2002  
(33) JP  
(46) 15.11.2006, Бюл. №11, 2006р.  
(72) Іто Такахіро, JP, Нарісава Сіндзі, JP  
(73) ТАНАБЕ СЕЙЯКУ КО., ЛТД., JP  
(56) WO 0205855 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD) 24 January 2002  
(57) 1. Рідкий препарат, який відрізняється тим, що містить похідне камптецину, одержане шляхом зв'язування сполуки формули (I)



в якій R<sup>1</sup> являє собою заміщену або незаміщену нижчу алкільну групу, X<sup>1</sup> означає групу формули -NHR<sup>2</sup> (R<sup>2</sup> означає атом водню або нижчу алкільну групу) або гідроксигрупу, Alk являє собою алкіленову групу з нерозгалуженим або розгалуженим ланцюжком, при необхідності перерваним атомом кисню, і полісахариду, який має карбоксильні групи, через амінокислоту або пептид, або його фармацевтично прийнятну сіль, який доводять до значення pH 5-8.

2. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що він містить одну або декілька сполук, вибраних з групи, яка складається з лимонної кислоти, цитрату лужного металу, оцтової кислоти, ацетату лужного металу і дигідрофосфату лужного металу як буфера.

3. Рідкий препарат за п.2, який відрізняється тим, що в ньому йонна сила буферного розчину дорівнює 0,2 або становить менше ніж 0,2.

4. Рідкий препарат за будь-яким з пп.1-3, який відрізняється тим, що в ньому значення pH регулюють від 5 до 7,5.

2

5. Рідкий препарат за будь-яким з пп.1-3, який відрізняється тим, що в ньому значення pH регулюють від 5 до 7.

6. Рідкий препарат за будь-яким з пп.1-3, який відрізняється тим, що в ньому значення pH регулюють від 5 до 6.

7. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що в ньому вміст похідного камптецину або його фармацевтично прийнятної солі становить від 1% до 20%.

8. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що він додатково містить один або кілька компонентів, вибраних із стабілізатора і наповнювача.

9. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що він додатково містить один або кілька стабілізаторів, вибраних з карбонату лужного металу і гідрокарбонату лужного металу, і один або кілька наповнювачів, вибраних з лактози, сахарози, маніту, декстрану, мальтози і трегалози.

10. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що він додатково містить одну або кілька солей, вибраних з хлориду лужного металу, хлориду лужноземельного металу і сульфату лужного металу.

11. Рідкий препарат за п.1, який відрізняється тим, що в ньому R<sup>1</sup> являє собою незаміщену C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкільну групу, X<sup>1</sup> являє собою аміногрупу і група Alk означає C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіленову групу з прямим ланцюжком, яка не переривається атомом кисню, полісахарид являє собою карбоксиметилований декстран або пулулан, і пептид являє собою пептид, що складається з 2-5 амінокислот.

12. Рідкий препарат за п.11, який відрізняється тим, що в ньому R<sup>1</sup> являє собою етильну групу, група формули X<sup>1</sup>-Alk-O- означає 3-амінопропілоксигрупу, і сполука камптецину формули (I) зв'язана за положенням 10 ядра камптецину, полісахарид являє собою декстран, до якого введено карбоксильну групу, і пептид являє собою гліцил-гліцил-L- або D-фенілаланіл-гліцин, гліцил-гліцин, гліцил-гліцил-гліцин, гліцил-гліцил-гліцил-гліцин, гліцил-гліцил-гліцил-гліцил-гліцин, L- або D-фенілаланіл-гліцин та L- або D-лейцил-гліцин.

(13) **C2**

(11) **77295**

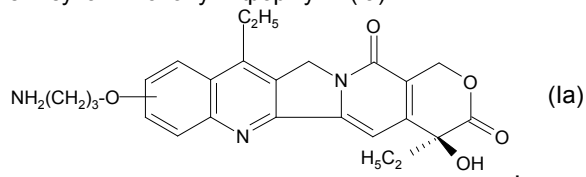
(19) **UA**

13. Рідкий препарат за п.12, який **відрізняється** тим, що в ньому пептид являє собою гліцил-гліцил-гліцин.

14. Ліофілізована композиція лікарського препарату, яка **відрізняється** тим, що вона одержана шляхом ліофілізації рідкого препарату за будь-яким з пп.1-13.

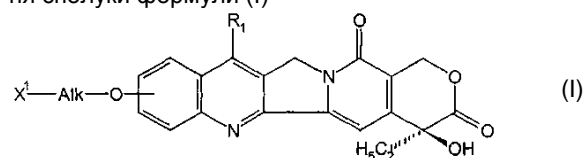
15. Рідка композиція для ін'єкції, яка **відрізняється** тим, що композицію за п.14 розчиняють у водному середовищі.

16. Рідкий препарат, який відрізняється тим, що містить похідне камптотецину, одержане шляхом зв'язування сполуки формули (Ia):



Даний винахід стосується рідкого препарату, що містить похідне камптотецину або його фармацевтично прийнятну сіль, який володіє високою протипухлинною активністю, фармацевтичної композиції, яку одержують шляхом ліофілізації препарату, та способу одержання зазначеної фармацевтичної композиції.

Більш конкретно, даний винахід стосується рідкого препарату для ін'єкцій, що містить похідне камптотецину, який одержують шляхом зв'язування сполуки формули (I)



де  $R^1$  являє собою заміщену або незаміщену нижчу алкільну групу,  $X^1$  означає групу формули  $-NHR^2$  ( $R^2$  означає атом водню або нижчу алкільну групу) або гідрокси-групу та Alk являє собою алкіленову групу з нерозгалуженим або розгалуженим ланцюжком, при необхідності перерваним атомом кисню, і полісахариду, який має карбоксильні групи, через амінокислоту або пептид, або його фармацевтично прийнятну сіль, який доводять до значення pH 5-8, або фармацевтичної композиції, одержаної шляхом ліофілізації вказаного рідкого препарату, або способу одержання композиції.

Похідні камптотецину за даним винаходом та їх фармацевтично прийнятні солі являють собою лікарський препарат, який володіє високою протипухлинною активністю у відношенні різних пухлин, особливу терапевтичну активність вони демонструють по відношенню до солідних пухлин, таких як рак легенів, рак матки, рак яєчників, рак молочної залози або рак шлунково-кишкової системи (рак товстої кишки, рак шлунку та ін.). Відомо, що вказані сполуки можуть бути введені парентерально (наприклад, внутрішньосудинна ін'єкція), як правило, у вигляді рідкого препарату (наприклад, розчин, суспензія, емульсія та ін.) [див. документи

і декстрану, який має карбоксильні групи, через гліцил-гліцил-гліцин, або його фармацевтично прийнятну сіль, де рідкий препарат доведено буфером до значення pH від 5 до 8.

17. Рідкий препарат за п.16, який **відрізняється** тим, що в ньому буфер являє собою одну або більше сполук, вибраних з лимонної кислоти, цитрату лужного металу, оцтової кислоти, ацетату лужного металу і дигідрофосфату лужного металу.

18. Рідкий препарат за п.17, який **відрізняється** тим, що в ньому буфер являє собою лимонну кислоту і дигідрофосфат натрію.

19. Рідкий препарат за п.18, який **відрізняється** тим, що він додатково містить хлорид натрію.

JP-10-72467A, EP-0757049A].

Вказане вище похідне камптотецину має структуру, в якій сполука камптотецину (активна речовина) формули (I) зв'язана з полісахаридом (карбоксиметильований декстран або пуллан) за допомогою спейсера (амінокислоти або пептиду). Зазначені похідні камптотецину при одержанні рецептури рідкого препарату часто піддаються гідролізу в місці приєднання спейсера або полісахаридного фрагменту в процесі приготування або зберігання. Гідроліз полісахаридного фрагменту призводить до зменшення середньої молекулярної маси вказаних похідних камптотецину та до збільшення дисперсії молекулярно-масового розподілу, причому ці зміни молекулярної маси здатні негативно вплинути на фармакокінетичні властивості зазначеного лікарського препарату. Крім того, гідроліз спейсера може призвести до вивільнення значної кількості активної речовини (сполука камптотецину формули (I) під час його приготування, що є небажаним з точки зору терапевтичних ефектів або побічної дії. У зв'язку з цим бажаним було б розробити рідкий препарат з високою стабільністю лікарського препарату в процесі його приготування та зберігання.

Автори даного винаходу провели інтенсивні дослідження для вирішення зазначеної проблеми та виявили, що рідкий препарат з високою стабільністю може бути одержаний шляхом регулювання pH рідкого препарату, що містить похідне камптотецину згідно винаходу, в інтервалі між 5 і 8 в процесі його одержання, здійснили цей винахід.

Таким чином, даний винахід забезпечує рідкий препарат для ін'єкцій, який містить похідне камптотецину, в якому сполука камптотецину зазначеної вище формули (I) зв'язана з полісахаридом, який має карбоксильну групу, через амінокислоту або пептид, або його фармацевтично прийнятну сіль, в якому значення pH доводиться до 5-8.

Крім того, автори даного винаходу встановили, що фармацевтична композиція, одержана шляхом

ліофілізації рідкого препарату, зазначеного вище, також володіє високою лікарською стабільністю в процесі приготування та зберігання. Відповідно, даний винахід також забезпечує таку фармацевтичну композицію.

В даному винаході може бути використане будь-яке з похідних камптотецину, розкритих в [документі JP-10-72467A], тобто похідне камптотецину, в якому сполука камптотецину зазначеної вище формули (I) зв'язана з полісахаридом, який має карбоксильну групу, через амінокислоту або пептид. Конкретні приклади похідних камптотецину включають ті, в яких група  $X^1$  сполуки формули (I) і карбоксильна група амінокислоти або пептиду (наприклад, пептиду, що складається з 2-5 амінокислот) зв'язуються з утворенням кислотно-амідного зв'язку або складноєфірного зв'язку, а аміногрупа вказаної амінокислоти або пептиду та частина або всі карбоксильні групи полісахариду, такого як карбоксиметильований декстран або пулулан, зв'язуються з утворенням зв'язку (зв'язків) кислота-амід.

Більш конкретно, похідні камптотецину включають ті похідні, в яких частина або всі карбоксильні групи полісахариду зв'язані з N-кінцевою аміногрупою вказаної амінокислоти або пептиду з утворенням кислотно-амідного зв'язку, і C-кінцева карбоксильна група вказаної амінокислоти або пептиду зв'язуються з групою  $X^1$  сполуки (I) з утворенням кислотно-амідного зв'язку або складноєфірного зв'язку.

Замісники в сполучі загальної формули (I) включають наступні групи. Коли  $X^2$  являє собою групу  $-NHR^2$ , нижча алкільна група  $R^2$  включає  $C_1$ - $C_4$ -алкільну групу, а замісник E нижчій алкільній групі  $R^1$  включає гідроксильну групу, яка при необхідності захищена, меркаптанову групу та аміногрупу (наприклад, при необхідності захищену алкільною групою або ацильною групою). Група Alk включає  $C_1$ - $C_6$ -алкіленову групу з прямим або розгалуженим ланцюжком, при необхідності перерваним атомом кисню.

Полісахариди, які відносяться до даного винаходу, включають полісахариди, в молекулі яких початково присутня карбоксильна група (наприклад, гіалуронова кислота, пектин та ін.), та полісахариди (наприклад, карбоксиметильований пулулан, карбоксиметильований декстран та ін.), які одержують шляхом введення карбоксильної групи до полісахариду, в молекулі якого карбоксильна група початково була відсутня (наприклад, декстран, пулулан та ін.). Серед полісахаридів карбоксиметильований декстран (наприклад, зі ступенем карбоксиметильовання більше, ніж 0,3, і менше, ніж 0,8) є особливо переважним. Його середня молекулярна маса переважно становить 20000-400000, особливо переважно 50000-150000.

Переважними похідними камптотецину є ті, в яких  $R^1$  являє собою  $C_1$ - $C_6$ -алкільну групу,  $X^1$  являє собою аміногрупу і група Alk означає  $C_1$ - $C_6$ -алкіленову групу з прямим ланцюжком, який не переривається атомом кисню, полісахарид є карбоксиметильованим декстраном або пулуланом, і пептид являє собою пептид, що складається з 2-5 амінокислот.

Більш переважними похідними камптотецину є

ті, в яких  $R^1$  означає етильну групу, група формули  $X^1$ -Alk-O- означає 3-амінопропілоксигрупу, і сполука камптотецину (I), зв'язана за положенням 10 ядра камптотецину, і декстран, до якого введена карбоксильна група, зв'язуються через пептид, обраний з групи, яка складається з: гліцил-гліцил-L- або D-фенілаланіл-гліцину, гліцил-гліцину, гліцил-гліцил-гліцину, гліцил-гліцил-гліцил-гліцину, гліцил-гліцил-гліцил-гліцил-гліцину, L- або D-фенілаланіл-гліцину та L- або D-лейцил-гліцину. Серед цих пептидів гліцил-гліцил-гліцин є особливо переважним.

Як ілюстрація фармацевтично прийнятних солей похідних камптотецину передбачені солі лужних металів, такі як сіль натрію або сіль калію, солі лужноземельних металів, такі як сіль кальцію, або солі амінокислоти, такі як сіль аргініну або лізину.

Рідкий препарат за даним винаходом одержують, наприклад, наступним чином: 1) вказане вище похідне камптотецину або його фармацевтично прийнятну сіль і, у випадку необхідності, інші компоненти (наприклад, допоміжні засоби для фармацевтичних препаратів, такі як буфери, стабілізуючі агенти) розчиняють у рідкому середовищі, такому як вода для ін'єкцій та ін.; 2) розчин доводять до значення pH 5-8, переважно 5-7,5, більш переважно 5-7, особливо переважно 6-7 за допомогою придатного буфера (наприклад, лимонної кислоти, соляної кислоти, гідроксиду натрію та ін.) і потім 3) після розведення водою для ін'єкцій з метою одержання бажаної концентрації лікарського препарату розчин фільтрують через мембранний фільтр тощо для того, щоб видалити нерозчинні матеріали (пірогени та ін.) і потім розчином заповнюють скляну судину, яка піддається герметизації, з наступною стерилізацією, для того, щоб одержати рідкий препарат.

Кількість похідного камптотецину або його фармацевтично прийнятної солі не обмежується, але складає від 1% до 20% (мас./об.), переважно від 1% (мас./об.) до 10% (мас./об.).

Буфер, який використовується для рідкого препарату за даним винаходом, обирають з групи, яка складається з лимонної кислоти, цитрату лужного металу (наприклад, натрієвої солі лимонної кислоти та ін.), оцтової кислоти, ацетату лужного металу (наприклад, ацетату натрію та ін.) та дигідрофосфату лужного металу (дигідрофосфату натрію та ін.). Ці сполуки доцільним чином сполучаються з метою використання в ролі буферу. Переважним сполученням для буферу є сполучення лимонної кислоти і цитрату натрію, сполучення лимонної кислоти і дигідрофосфату натрію, сполучення оцтової кислоти і ацетату натрію, переважно сполучення лимонної кислоти і цитрату натрію. Іонна сила буферного розчину, який використовується для рідкого препарату за даним винаходом, може бути відрегульована, наприклад, на рівні 0,01-0,6, переважно 0,01-0,3, особливо переважно 0,05-0,2.

До рідкого препарату за даним винаходом та його ліофілізованої композиції можуть бути додані традиційні компоненти, які використовуються для ін'єкцій, а також вказані вище компоненти. Ці компоненти являють собою наповнювачі (лактоза, сахароза, маніт, декстран, мальтоза, трегалоза та

ін.), солюбілізуєчі агенти (складний ефір жирної кислоти і поліоксиетиленсорбітану, такий як полісорбат 80 та ін., поліоксиетиленовану та гідрогенізовану рицинову олію, таку як HCO-60 та ін., простий поліоксиетиленалкіловий ефір, такий як поліоксиетилен-лауриловий ефір, сорбітановий складний ефір жирної кислоти, такий як Span 80 та ін.), стабілізатор (карбонат лужного металу, такий як карбонат натрію, гідрокарбонат лужного металу, такий як гідрокарбонат натрію та ін.), антиоксиданти (гідрохлорид цистеїну, токоферол, аскорбінова кислота), агенти для підтримання тоничності (гліцерин, глюкоза та ін.) і консерванти (тимерозал, етанол, пропіленгліколь, бензиловий спирт, алкіловий ефір п-гідроксибензойної кислоти, такий як бутиловий ефір п-гідроксибензойної кислоти та ін.).

Кількість наповнювача складає, наприклад, 10-100% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі. Кількість солюбілізуючого агента становить, наприклад, 0,1-10% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі. Кількість стабілізатору становить, наприклад, 0,1-10% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі. Кількість антиоксиданту становить, наприклад, 0,1-10% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі. Кількість агента для підтримання тоничності становить, наприклад, 0,01-1% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі. Кількість консерванту становить, наприклад, 0,001-0,2% від похідного камптотечину формули (I) або його фармацевтично прийнятної солі.

Рідкий препарат, одержаний як описано вище, заливають до жорсткої судини, такої як стерильна ампула, пляшечка, шприц тощо, і піддають ліофілізації традиційним способом, для того щоб одержати фармацевтичну композицію за даним винаходом.

Ліофілізовану фармацевтичну композицію за даним винаходом готують наступним чином.

Кількість рідкого препарату, яким заповнюють судину, становить, наприклад, 5-50% (об./об.) від об'єму судини, особливо переважно 10-25% (об./об.).

Зовнішню температуру при ліофілізації переважно підтримують від -50 до 60°C, особливо переважно від -50 до 40°C, і застосовуваний тиск для сублімації розчинника переважно становить від 0,01 до 0,2 мм рт.ст., більш переважно від 0,01 до 0,1 мм рт.ст. Переважно швидкість ліофілізації регулюється таким чином, щоб об'єм розчинника (в розрахунку на розчин) сублімувався зі швидкістю від 10 мкл до 100 мкл на 1 см<sup>2</sup> площини поверхні, з якої сублімується розчинник, на протязі 1 години, особливо від 30 до 60 мкл, при дотриманні інгредієнтів рідини, яку піддають ліофілізації, температури ліофілізації, тиску сублімації розчинника та ін.

У випадку ліофілізації рідкого препарату, осо-

бливо препарату, який містить маніт, декстран та/або карбонат натрію та ін., захист від руйнування судини забезпечується попереднім додаванням щонайменше однієї солі, обраної з групи, яка складається з хлоридів лужних металів (хлориду літію, хлориду натрію, хлориду калію та ін.), хлоридів лужноземельних металів (хлориду магнію, хлориду кальцію та ін.) та сульфатів лужних металів (сульфату літію, сульфату натрію, сульфату калію та ін.) до вказаного рідкого препарату. В цьому випадку переважними солями є хлорид натрію, сульфат натрію та ін. Переважна кількість вказаної солі становить 0,01-10%, більш переважно 0,1-5% від ваги лікарського препарату.

Рідкий препарат та фармацевтична композиція, яку одержують шляхом ліофілізації цього рідкого препарату, переважно зберігаються в запаяній судині, захищеній від дії світла.

Рідкий препарат за даним винаходом, приготований як вказано вище, володіє чудовими властивостями у відношенні стабільності лікарського препарату (похідне камптотечину) в процесі приготування або зберігання. Тому рідкий препарат може бути безпосередньо введений пацієнту. Дозування рідкого препарату варіює в залежності від віку, ваги тіла та умов, але звичайно становить 0,02-50 мг/кг, особливо 0,1-10 мг/кг, в розрахунку на сполуку камптотечину формули (I) (у випадку, коли X<sup>1</sup> являє собою групу -NHR<sup>2</sup>, то його гідрохлорид).

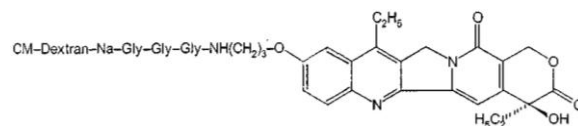
Крім того, фармацевтична композиція, одержана шляхом ліофілізації рідкого препарату за даним винаходом, володіє чудовими властивостями у відношенні стабільності лікарського препарату в процесі приготування або зберігання, і тому вона застосовується в ін'єкції, яка готується при необхідності.

Даний винахід додатково пояснюється з детальним розгляданням у прикладах, але винахід не повинен бути обмежений цими прикладами.

Приклад 1. Приготування рідкого препарату.

У відповідності до складу інгредієнтів, наведеного нижче в Таблиці 1, готують водний розчин лікарського препарату і фільтрують крізь мембранний фільтр (тип GS, діаметр пор 0,22 мкм, виробництво фірми Millipore Ltd.). Фільтрат (1 мл) заливають у скляні ампули об'ємом 3 мл. Кожну ампулу стерилізують паром при 100°C протягом 15 хв, з одержанням рідкого препарату.

Лікарський препарат: похідне камптотечину, описане в прикладі 84 документа JP-10-72467A, де воно представлено наступною формулою:



в якій CM-Dextran означає "карбоксиметильований декстран".

Таблиця 1

	Порівняльний приклад	Рідкий препарат за даним винаходом			
		1	2	3	4
Лікарський препарат (г)		0,4			
Дигідрофосфат натрію (г)	0,110	0,147	0,180	0,213	0,245
Лимонна кислота	0,118	0,093	0,071	0,047	0,023
Водний 0,4М розчин дигідрофосфату натрію	q. s. *	q.s.			
Водний 0,2М розчин лимонної кислоти	q. s.	q.s.			
Хлорид натрію (г)	0,771	0,771			
Вода для ін'єкцій	q. s.	q.s.			
ВСЬОГО:	100мл	100мл			
Значення pH	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0

\*) Скільки потрібно.

Стабільність рідких препаратів. Одержаний вище препарат зберігають за визначених умов зберігання (при температурі 60°C протягом 20 діб, 50°C протягом 30 діб або 40°C протягом 120 діб), і визначають стабільність лікарського препарату (середня молекулярна маса і розподіл молекулярної маси, і кількість вільного активного камптотецину).

Результати наведені нижче, в Таблиці 2. Середню молекулярну масу лікарського препарату розраховують з використанням методу GPS багатокутного лазерного розсіювання (метод MALLS), а розподіл середньої молекулярної маси розраховують за наступною формулою:

$$\text{розподіл середньої молекулярної маси} = \frac{\text{середньовагова молекулярна маса } \langle MW \rangle}{\text{середньочисленна молекулярна маса } \langle MN \rangle}$$

Таблиця 2

	Значення pH	Умови зберігання	Середня молекулярна маса	Розподіл середньої молекулярної маси
Рідкий препарат 1 за даним винаходом	5,0	Вихідний	138 900	1,195
		60°C протягом 20 діб	125 800	1,183
Рідкий препарат 2 за даним винаходом	6,0	Вихідний	129 100	1,169
		60°C протягом 20 діб	131 200	1,177
Рідкий препарат 3 за даним винаходом	7,0	Вихідний	131 400	1,191
		60°C протягом 20 діб	131 400	1,186
Рідкий препарат 4 за даним винаходом	8,0	Вихідний	130 900	1,202
		60°C протягом 20 діб	127 000	1,195
Порівняльний приклад	4,0	Вихідний	129 800	1,200
		60°C протягом 20 діб	110 100	1,720

Таблиця 3

	Значення pH	Кількість вільної активної сполуки камптотецину*, %			
		вихідна	60°C, 20 діб	50°C, 30 діб	40°C, 120 діб
Рідкий препарат 1 за даним винаходом	5,0	3,08	13,15	9,17	10,60
Рідкий препарат 2 за даним винаходом	6,0	1,67	8,12	5,83	5,53
Рідкий препарат 3 за даним винаходом	7,0	1,48	14,53	6,60	6,52
Рідкий препарат 4 за даним винаходом	8,0	1,93	17,32	8,31	7,95
Порівняльний приклад	4,0	13,81	23,73	24,84	27,33

\*) Сполука активного камптотецину означає сполуку наступної формули, і її вміст аналізують кількісно в наступних умовах (ті ж самі і для решти прикладів).

Кількісний аналіз. Розчин зразка розбавляють 0,2М розчином буферу мурашина кислота - форміат амонію в 200 разів, і потім змішують розбавлений розчин (0,4мл) з розчином внутрішнього стандарту (0,1мл), і суміш фільтрують крізь мембранний фільтр (діаметр пор 0,45мкм), щоб одержати досліджуваний зразок для кількісного аналізу.

Кількісний аналіз зразка проводять за методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за наступних умов.

Кількість (%) вільного активного камптотецину в кожному зразку розраховують як % від кількості вільної активної сполуки камптотецину, яка утворюється при додаванні 10-разової кількості б Н

соляної кислоти до розчину зразка, який зберігають в холодильнику, і далі при нагріванні при температурі 100°C протягом 4 год. Умови ВЕРХ.

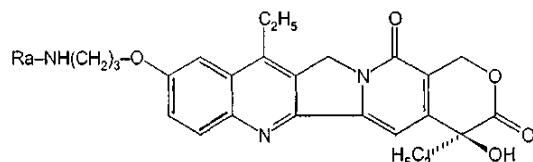
Колонка: Inertsil ODS (виробництва фірми GL Science Inc.).

Рухома фаза: 35мМ розчин буферу - мурашина кислота - форміат амонію (pH 3)/ацетонітрил (80/20) (потік - 1,0мл/хв).

Температура колонки: 40°C.

Детектування: флуоресцентний фотометр (Ex=360, Em=420nm).

Активна сполука камптотецину:



в якій Ra являє собою атом водню, групу Gly-, Gly- Gly- або Gly- Gly- Gly-.

З наведених вище результатів випливає, що в рідких препаратах за даним винаходом (pH 5-8) середня молекулярна маса лікарського препарату знижується менше, ніж у рідкому препараті з порі-

вняльного прикладу, і тому визнано, що попереджається збільшення дисперсії розподілу середньої молекулярної маси. Це показує, що в рідкому препараті за даним винаходом може бути попереджено розкладання лікарського препарату (а саме, розщеплення ланцюжка в молекулі декстрану), і крім того, може бути попереджене небажане утворення вільної активної сполуки камптотецину внаслідок розкладання спейсерної ділянки.

Приклад 2. Приготування ліофілізованих композицій.

Використовуючи той самий лікарський препарат, що і в прикладі 1, і на основі рецептури, описаної в Таблиці 4, готують кожний із зазначених водних розчинів лікарського препарату і фільтрують його крізь мембранний фільтр (тип GS, діаметр пор 0,22мкм виробництва фірми Millipore Ltd.). Фільтрат (1мл) заливають у безбарвні ампули об'ємом 13мл, які запаюють. Кожну ампулу піддають ліофілізації (попередньо заморожують при температурі -50°C протягом 3год і проводять первинну дегідратацію при 20°C протягом 30год та вторинну дегідратацію при 60°C протягом 6год), для того, щоб одержати композицію ліофілізованого лікарського препарату.

Таблиця 4

	Порівняльний приклад		Композиція за винаходом даним			
	A	B	1	2	3	4
Лікарський препарат (г)	5,0					
Дигідрофосфат натрію (г)	0,0059	0,110	0,147	0,180	0,213	0,245
Лимонна кислота	0,153	0,118	0,093	0,071	0,047	0,023
0,4М розчин дигідрофосфату натрію	q. s. *		q. s.			
Водний 0,2М розчин лимонної кислоти	q. s.		q. s.			
Вода для ін'єкцій	q. s.		q. s.			
ВСЬОГО:	100мл		100мл			
Значення pH	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0

\*) Скільки потрібно.

Стабільність ліофілізованих композицій. Одержаний вище препарат зберігають при температурі 60°C протягом 20 діб, і визначають стабільність композицій лікарського препарату (зміна кольору, наявність або відсутність нерозчинних матеріалів

після відновлення, розподіл молекулярної маси лікарського препарату і кількість вільної активної сполуки). Результати наведені в наступних Таблицях 5-1, 5-2 і 5-3.

Таблиця 5-1

Наявність (чи відсутність) нерозчинних матеріалів

	Порівняльний приклад		Композиція за даним винаходом			
	A	B	1	2	3	4
Зміна кольору	Немає (жовтий)	Немає (блідий жовто-зелений)	Немає (блідий жовто-зелений)			
Стан після відновлення	Наявний нерозчинний матеріал	Трохи нерозчинного матеріалу	Нерозчинний матеріал відсутній			
Значення pH після відновлення	3,0	4,1	5,1	6,1	7,1	8,1

Таблиця 5-2

Зміна середньої молекулярної маси і розподілу молекулярної, маси лікарського препарату

	Значення pH	Умови зберігання	Середня молекулярна маса	Розподіл середньої молекулярної маси
Композиція 1 за даним винаходом	5,0	Вихідний	135 400	1,144
		60°C протягом 20 діб	128 700	1,145
Композиція 2 за даним винаходом	6,0	Вихідний	132 800	1,145
		60°C протягом 20 діб	128 500	1,140
Композиція 3 за даним винаходом	7,0	Вихідний	130 600	1,143
		60°C протягом 20 діб	128 300	1,147
Композиція 4 за даним винаходом	8,0	Вихідний	129 800	1,144
		60°C протягом 20 діб	131 100	1,128
Порівняльний приклад А	3,0	Вихідний	132 900	1,120
		60°C протягом 20 діб	150 300	1,280
Порівняльний приклад В	4,0	Вихідний	135 100	1,134
		60°C протягом 20 діб	138 100	1,209

Таблиця 5-3

Кількість вільної активної сполуки

	Значення pH	Кількість вільної активної сполуки камптотецину, % (Умови зберігання: 60°C, 20 діб)
Композиція 1 за даним винаходом	5,0	<0,3
Композиція 2 за даним винаходом	6,0	<0,3
Композиція 3 за даним винаходом	7,0	<0,3
Композиція 4 за даним винаходом	8,0	<0,3
Порівняльний приклад А	3,0	0,76
Порівняльний приклад В	4,0	0,48

Приклад 3. Одержання ліофілізованих композицій.

Той же самий лікарський препарат (10г), що і в прикладі 1, моногідрат лимонної кислоти (0,42г) та хлорид натрію (500мг) розчиняють у воді для ін'єкцій (100мл) і розчин доводять до pH 5,0 1М розчином гідроксиду натрію, і далі доводять загальний об'єм до 200мл додаванням води для ін'єкцій. Розчин фільтрують крізь мембранний фільтр (тип GS, діаметр пор 0,22мкм, виробництво фірми Millipore Ltd.), і фільтрат (2мл) заливають в безбарвні скляні ампули об'ємом 3мл. Вміст кожної ампули піддають ліофілізації звичайним способом, для того,

щоб одержати ліофілізовані препарати, які готують при необхідності (препарат за даним винаходом).

Як порівняльний приклад той же самий лікарський препарат (10г), що і в прикладі 1, і моногідрат лимонної кислоти (0,42г) розчиняють у воді для ін'єкцій (100мл), і розчин обробляють таким самим чином, як описано вище, для того щоб одержати ліофілізовані препарати, які готують при необхідності (хлорид натрію не додають).

Руйнування скляних ампул випробовують на композиції за даним винаходом та композиції з порівняльного прикладу. Результати наведені в Таблиці 6 нижче.

Таблиця 6

	Кількість розбитих ампул на 100 штук
Ліофілізована композиція за даним винаходом	0
Ліофілізована композиція з порівняльного прикладу	40

Приклад 4. Одержання ліофілізованих композицій.

Той же самий лікарський препарат (5г), що і в прикладі 1, моногідрат лимонної кислоти (0,093г), безводний дигідрофосфат натрію (0,147г) та хлорид натрію (50мг) розчиняють у воді для ін'єкцій (50мл) і розчин доводять до pH 5,0 0,4М водним розчином дигідрофосфату натрію або 0,2М водним розчином лимонної кислоти, і для одержання загального об'єму 100мл додають воду для ін'єкцій. Розчин фільтрують крізь мембранний фільтр

(тип GS, діаметр пор 0,22мкм, виробництво фірми Millipore Ltd.), і фільтрат (20мл) заливають в скляну ампулу об'ємом 100мл. Вміст кожної ампули ліофілізують звичайним способом, для того, щоб одержати ліофілізовану композицію, яку готують при необхідності.

Приклад 5. Одержання ліофілізованих композицій.

Той же самий лікарський препарат (5г), що і в прикладі 1, моногідрат лимонної кислоти (0,093г), сахарозу (5г) і хлорид натрію (50мг) розчиняють у

воді для ін'єкцій (50мл) і розчин доводять до рН 6,0 1М водним розчином гідроксиду натрію, доводячи загальний об'єм до 100мл додаванням води для ін'єкцій. Розчин фільтрують крізь мембранний фільтр (тип GS, діаметр пор 0,22мкм, виробництво фірми Millipore Ltd.), і фільтрат (20мл) заливають в скляну ампулу об'ємом 100мл. Вміст кожної ампули ліофілізують звичайним способом, для того,

щоб одержати ліофілізовані композиції, які готують при необхідності.

Рідкий препарат за даним винаходом і композиція, одержана шляхом його ліофілізації, мають чудову дію, яка полягає в тому, що на кожній стадії в процесі приготування, фасування та зберігання зменшується розкладання лікарського препарату (камптотецин).