SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**

ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(22) Dátum podania: 19.05.95

(31) Číslo prioritnej prihlášky: 106415/94

(32) Dátum priority: 20.05.94

(33) Krajina priority: JP

(40) Dátum zverejnenia: 04.06.97

(86) Číslo PCT: PCT/JP95/00962, 19.05.95

(21) Číslo dokumentu:

1484-96

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[6] :

A 61K 9/14,
A 61K 47/26,
A 61K 47/02,
A 61K 31/495

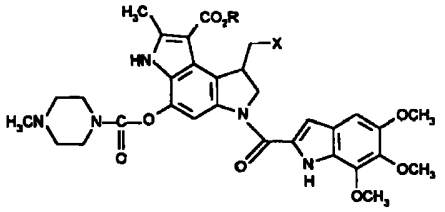
(71) Prihlasovateľ: KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD, Chiyoda--ku, Tokyo, JP;

(72) Pôvodca vynálezu: Nakakura Masashi, Sunto-gun, Shizuoka, JP;
Ueno Yuji, Sunto-gun, Shizuoka, JP;
Hayakawa Eiji, Susono-shi, Shizuoka, JP;
Kuroda Tokuyuki, Susono-shi, Shizuoka, JP;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Farmaceutický prípravok obsahujúci deriváty duokarmycínu a spôsob stabilizácie derivátov duokarmycínu**

(57) Anotácia:

Stabilizované deriváty duokarmycínu podľa vzorca (I), kde R je nižší alkyl, alyl alebo benzyl, a X je Cl alebo Br, sa pripravia pridaním aspoň jednej zlúčeniny vybranej zo skupiny obsahujúcej sacharid, elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid k roztoku obsahujúcemu deriváty duokarmycínu. Tiež sa poskytujú lyofilizované farmaceutické prípravky obsahujúce stabilizované deriváty duokarmycínu.



(I)

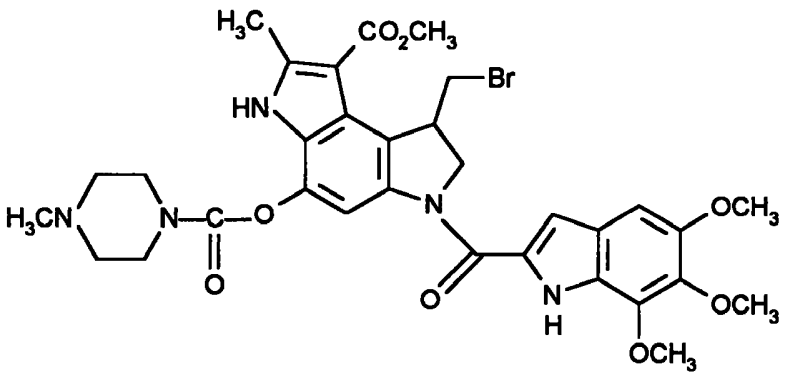
Farmaceutický prípravok obsahujúci deriváty duokarmycínu a spôsob stabilizácie derivátov duokarmycínu

Oblasť techniky

Predložený vynález sa vzťahuje na spôsob stabilizácie derivátov duokarmycínu a na prípravky obsahujúce takéto stabilizované deriváty.

Doterajší stav techniky

O derivátoch duokarmycínu ako je zlúčenina A predstavená vzorcom uvedeným nižšie je známe, že majú protinádorovú aktivitu (pozri U. S. Patent č. 5,070,092). Naviac o zlúčenine A je známe, že je stabilizovaná vo forme svojho hydrobromidu (pozri Európsky patent č. A 537575).

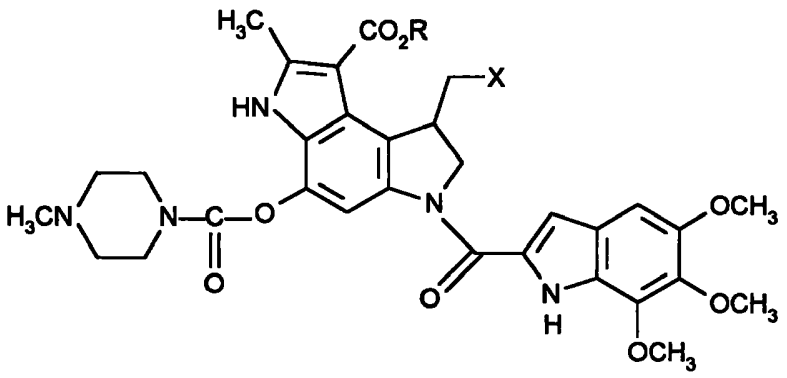


Zlúčenina A

Ovšem deriváty duokarmycínu vrátane zlúčeniny A vo forme jeho hydrobormidu sa ľahko rozkladajú vo vodnom roztoku. Táto nestabilita týchto zlúčenín je veľkým problémom pri liečivách určených na dlhodobé skladovanie. Preto teda existuje potreba stabilných farmaceutických prípravkov obsahujúcich deriváty duokarmycínu, ktoré sa môžu dlhodobo skladovať.

Podstata vynálezu

Predložený vynález poskytuje spôsob stabilizácie derivátov duokarmycínu predstavených všeobecným vzorcom I:



(I)

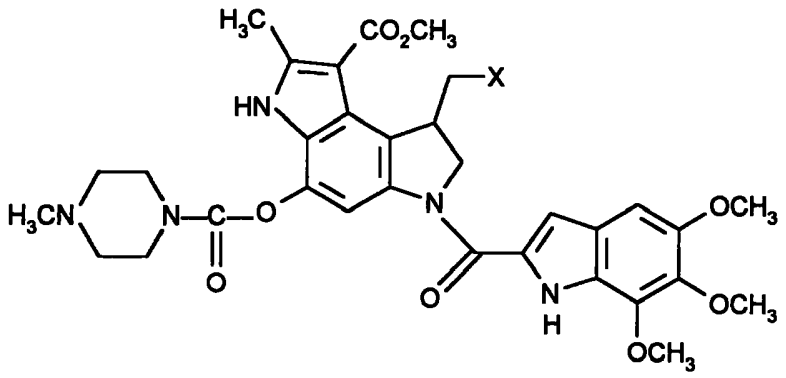
kde R predstavuje nižšiu alkylovú skupinu, alylovú skupinu alebo benzylovú skupinu, a X predstavuje atóm chlóru alebo atóm brómu, kedy tento spôsob je charakteristický tým, že v roztoku obsahujúcom uvedené deriváty duokarmycínu je prítomný aspoň jeden člen vybraný zo skupiny obsahujúcej sacharid, elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid. Výhodne je pri spôsobe stabilizácie lyofilizovaný roztok obsahujúci uvedený derivát duokarmycínu predstavený vzorcom I a sacharid. Výhodnejšie sa lyofilizuje roztok ďalej obsahujúci aspoň jeden člen vybraný zo skupiny obsahujúcej elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid. Predložený vynález poskytuje lyofilizované farmaceutické prípravky obsahujúce deriváty duokarmycínu, ktoré sa stabilizovali vyššie uvedeným spôsobom.

V definícii vzorca I nižšia alkylová skupina znamená alkylovú skupinu s rovným alebo rozvetveným reťazcom, ktorá má 1 až 6 atómov uhlíka, napríklad, metylovú skupinu, etylovú skupinu, propylovú skupinu, izopropylovú skupinu, butylovú skupinu, sek-butylovú skupinu, terc-butylovú skupinu, pentylovú skupinu a hexylovú skupinu.

Deriváty duokarmycínu predstavené vzorcom I môžu sa vyrobiť postupom opísaným v US patente č. 5,070,092.

Špecifické príklady derivátov duokarmycínu na použitie v predloženom vynáleze sú uvedené v Tabuľke 1.

Tabuľka 1



Zlúčenina č.	X	IR (KBr), ν (cm^{-1})
1 (Zlúčenina A)	Br	3475, 3232, 2944, 1698, 1491, 1410, 1313, 1217, 1110
1 (Zlúčenina A) *	Br	1717, 1692, 1608, 1525, 1490, 1409, 1310, 1218, 1167, 1108
2	Cl	2940, 1698, 1637, 1491, 1410, 1314, 1218, 1154, 1109

*: hydrobromid monohydrát

V súlade s predloženým vynálezom je derivát duokarmycínu predstavený vzorcom I a aspoň jeden člen vybraný zo skupiny obsahujúcej sacharid, elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid rozpustený v roztoku, výhodne v kyslom roztoku, ešte výhodnejšie v kyslom roztoku, ktorého pH sa nastavilo na pH 5 alebo menej. Vzniknutý roztok sa filtruje cez membránový filter za sterilných podmienok a lyofilizuje.

Ako sacharid sa môže použiť laktóza, sukróza, rafinóza, dextran a iné. Výhodná je laktóza. Koncentrácia sacharidu v roztoku je od 0.005 do 1000 mg/ml, výhodne od 1 do 500 mg/l. Môže sa použiť akýkoľvek farmaceuticky prijateľný elektrolyt, ktorý môže zvýšiť iónovú silu roztoku. Napríklad môžu sa použiť anorganické kyseliny ako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina sírová, kyselina uhličitá, kyselina kremičitá, kyselina fosforečná a kyselina boritá; organické kyseliny ako je kyselina citrónová a kyseina octová; a ich sodné soli, draselné soli a iné. Koncentrácia elektrolytu v roztoku je od 0.001 do 500 mg/ml, výhodne od 0.01 do 100 mg/ml. Ako vo vode rozpustný polymér môže sa použiť polyvinylalkohol, polyvinylpyrolidón, polyetylénglykol, karboxyvinylový polymér a iné, v koncentrácii 1 až 1000 mg/ml, výhodne 10 až 500 mg/ml. Ako viacsýtny alkohol sa môže použiť glycerol, propylénglykol a iné v koncentrácii 10 až 1000 mg/ml, výhodne 100 až 500 mg/ml. Ako tenzid sa môže použiť ester polyetoxylovaného sorbitanu a mastné kyseliny (Tween), polyetoxylovaný hydrogenovaný ricínový olej a iné v koncentrácii 0.01 až 5000 mg/ml, výhodne 0.1 až 500 mg/ml. Koncentrácia derivátu duokarmycínu v roztoku na lyofilizáciu je od 0.001 do 1000 mg/ml, výhodne od 0.1 do 10 mg/ml. Lyofilizácia roztoku sa uskutočňuje za zodpovedajúcich podmienok. Napríklad, roztok sa najprv mrazí pri -50 °C 5 hodín (predmrazenie), lyofilizuje pri -30 °C a 5 Pa 30 hodín a potom pri 0 °C a pri 5 Pa 15 hodín (primárna lyofilizácia). Materiál sa ďalej lyofilizuje pri 25 °C a pri 5 Pa 15 hodín (sekundárna lyofilizácia).

Typicky sa roztok lyofilizuje v liekovke, a po lyofilizácii sa liekovka obsahujúca lyofilizovaný prípravok uzavrie gumovou zátkou a hliníkovým viečkom, čím sa získa lyofilizovaný farmaceutický prípravok obsahujúci derivát duokarmycínu.

Pri klinickom použití lyofilizovaných duokarmycínových prípravkov sa lyofilizovaný farmaceutický prípravok rozpustí v roztoku obsahujúcom ako stabilizátor aspoň jeden člen vybraný zo skupiny obsahujúcej elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid.

Farmaceutický prípravok predloženého vynálezu môže obsahovať, pokiaľ je to vhodné, antioxidant, antiseptikum, tlmivý roztok, ukľudňujúci prostriedok, solubilizátor, izotonicitný prostriedok, konzervačný prostriedok, stabilizátor, vehikulum, spojivo, dezintegrátor, zmáčadlo, lubrikant, farbiaci prostriedok, aromatický prostriedok, ochucovadlo, povlak, suspendačný prostriedok, emulgátor, plastifikátor, tenzid a podobne, ktoré sú farmaceuticky prijateľné. Napríklad prípravok sa môže dodatočne pripraviť tak, že obsahuje antioxidant ako je kyselina askorbová, vitamín E, butylhydroxytoluén a benzylhydroxytoluén; antiseptikum ako sú parabenáty a chlórbutanol; tlmivý roztok ako je kyselina fosforečná a kyselina citrónová; ukľudňujúci prostriedok ako je benzylalkohol a lidokain; vehikulum ako je kryštalická celulóza, hydroxypropylovaný škrob, škrob a kukuričný škrob; spojivo ako je pululan, polyvinylalkohol a hydroxypropylcelulóza; dezintegrátor ako je karboxymetylcelulóza a sodná soľ crosscarmelózy; lubrikant ako je stearan horečnatý, talok a hydrogenovaný olej, atď.

Farmaceutický prípravok predloženého vynálezu môže sa vyrábať nielen ako injekčné prípravky, ale tiež ako orálne prípravky ako sú tablety, kapsle a granule a rovnako na rektálne podávanie vo forme čípkov atď.

Rozvrh dávkovania a podávania farmaceutického prípravku predloženého vynálezu na použitie ako protinádorový prípravok sa bude meniť v závislosti na rôznych faktoroch ako je pacientov vek, hmotnosť a fyzický stav. Napríklad, ak sa prostriedok použije ako protinádorová injekcia, je vhodné podávať účinnú látku v množstve 0.0001 až 10 mg/kg. Podávať sa môže raz za deň (jednorazové podanie alebo nasledovné podanie) alebo prerušovane jeden až trikrát za týždeň alebo raz každé tri týždne.

Určité špecifické uskutočnenia vynálezu sú ilustrované nasledujúcimi reprezentatívnymi príkladmi a testovacími príkladmi.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

V tomto príklade sa rozpustilo v destilovanej vode 50 mg kyseliny citrónovej, 100 mg hydrobromidu zlúčeniny A a 5000 mg laktózy tak, aby vznikol celkový objem 200 ml. Vzniknutý roztok sa vlial do 15 ml sklenených liekoviek v 2 ml podieloch a lyofilizoval sa za zníženého tlaku. Po lyofilizácii sa tlak upravil na normálny tlak prúdom dusíka a každá liekovka sa uzavrela gumovou zátkou a hliníkovým viečkom, čo poskytlo lyofilizovaný prípravok obsahujúci zlúčeninu A.

Príklad 2

V tomto príklade sa v destilovanej vode rozpustilo 50 mg kyseliny citrónovej, 100 mg hydrobromidu zlúčeniny A, 5000 mg laktózy a 100 mg bromidu sodného tak, aby vznikol celkový objem 200 ml. Vzniknutý roztok sa vlial do 15 ml sklenených liekoviek v 2 ml podieloch a lyofilizoval za zníženého tlaku. Po lyofilizácii sa tlak upravil na normálny tlak prúdom dusíka a každá liekovka sa uzavrela gumovou zátkou a hliníkovým viečkom, čo poskytlo lyofilizovaný prípravok obsahujúci zlúčeninu A.

Príklad 3

V tomto príklade sa v destilovanej vode rozpustilo 50 mg kyseliny citrónovej, 100 mg hydrobromidu zlúčeniny A, 5000 mg laktózy, 100 mg bromidu sodného a 500 mg polyetoxylovaného sorbitanu monooleátu (Tween 80) na celkový objem 200 ml. Vzniknutý roztok sa vlial do 15 ml sklenených liekoviek v 2 ml podieloch a lyofilizoval za zníženého tlaku. Po lyofilizácii sa tlak upravil na normálny tlak prúdom dusíka a každá liekovka

sa uzavrela gumovou zátkou a hliníkovým viečkom, čo poskytlo lyofilizovaný prípravok obsahujúci zlúčeninu A.

Príklad 4

V tomto príklade sa v destilovanej vode rozpustilo 50 mg kyseliny citrónovej a 100 mg hydrobromidu zlúčeniny A na celkový objem 200 ml. Vzniknutý roztok sa vlial do 15 ml sklenených liekoviek v 2 ml podieloch a lyofilizoval sa za zníženého tlaku. Po lyofilizácii sa tlak upravil na normálny tlak prúdom dusíka a každá liekovka sa uzavrela gumovou zátkou a hliníkovým viečkom, čo poskytlo lyofilizovaný prípravok obsahujúci zlúčeninu A.

Testovací príklad 1

Hydrobromid zlúčeniny A (1 mg) sa rozpustil v destilovanej vode na celkový objem 10 ml (kontrolný roztok). Oddelene sa v destilovanej vode rozpustilo 0,5 mg kyseliny citrónovej a 1 mg hydrobromidu zlúčeniny A spoločne s 1 mg bromidu sodného (Testovací roztok 1), alebo 1 mg bromidu sodného a 5 mg Tweenu 80 (Testovací roztok 2) na celkový objem 10 ml. Všetky testovacie roztoky sa nastavili na pH 3,6. Kontrolný roztok a testovacie roztoky sa vliali do 15 ml sklenených liekoviek a uložili do termostatu pri 25 °C. Z každého roztoku sa odoberali vzorky objemu 1 ml vo vopred určených intervaloch. Obsah zlúčeniny A nachádzajúci sa v každom z testovaných vzorkovacích roztokov sa analyzoval vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou a výsledky sú uvedené v Tabuľke 2.

Podmienky vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie:

kolóna:	Intertsil ODS-2, 6,0 ∅ x 250 mm
mobilná fáza:	0,05 M fosfátový tlmivý roztok (pH 5,9)/acetonitril (48 objemových dielov)/52 objemových dielov)

prietok: 1,0 ml/min
detekčná vlnová dĺžka: 330 nm

Tabuľka 2
Stabilita zlúčeniny A vo vodnom roztoku (pri 25 °C)

Testovaný roztok	Obsah zlúčeniny A (%)		
	0 hodín (štart)	2 hodiny	4 hodiny
kontrolný roztok	100,0	95,5	91,9
testovací roztok 1	100,0	95,7	93,2
testovací roztok 2	100,0	98,6	97,9

Ako je zrejmé z výsledkov kontrolného roztoku v Tabuľke 2, zlúčenina A sa po čase vo vodnom roztoku rozkladá. Stabilita zlúčeniny A vo vodnom roztoku sa zlepšila pridaním samotného bromidu sodného (testovací roztok 1) alebo pridaním bromidu sodného a Tweenu 80 (testovací roztok 2). Z týchto výsledkov je zrejmé, že prídavok bromidu sodného alebo bromidu sodného a Tweenu 80 do vodného roztoku zlúčeniny A zlepšuje stabilitu zlúčeniny A v roztoku počas spôsobu prípravy lyofilizovaného prípravku a v priebehu času medzi rekonštitúciou lyofilizovaného prípravku a podaním rekonštituovaného prípravku pacientovi. Teda pravdepodobnosť podania rozkladného produktu zlúčeniny A pacientovi je znížená.

Testovací príklad 2

Kyselina citrónová (5 mg) a 1 mg hydrobromidu zlúčeniny A sa rozpustili v destilovanej vode spoločne s 1 g propylénglykolu (testovací roztok 3) alebo 1 g polyetylénglykolu 400 (testovací roztok 4) na celkový

objem 10 ml. Obidva roztoky mali pH nastavené na 3,0.Testovacie roztoky sa vliali do 15 ml sklenených liekoviek a uložili do termostatu pri 40 °C. Z každého roztoku sa odoberali 1 ml vzorky vo vopred určených intervaloch. Obsah zlúčeniny A nachádzajúcej sa v každom z testovaných roztokov vzoriek sa analyzoval vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou a výsledky sú uvedené v Tabuľke 3.

Podmienky vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie:

kolóna:	Intertsil ODS-2, 6,0 ∅ x 250 mm
mobilná fáza:	0,05 M fosfátový tlmivý roztok (pH 5,9)/acetonitril (48 objemových dielov)/52 objemových dielov)
prietok:	1,0 ml/min
detekčná vlnová dĺžka:	330 nm

Tabuľka 3
Stabilita zlúčeniny A vo vodnom roztoku (pri 40 °C)

Testovaný roztok	Obsah zlúčeniny A (%)		
	0 hodín (štart)	3 hodiny	6 hodín
testovací roztok 3	100,0	68,4	46,8
testovací roztok 4	100,0	84,9	70,8

Testovací pokus 3

Lyofilizované prípravky získané v pokusoch 1 až 4 sa uložili do termostatu pri 60 °C na 30 dní. Obsah zlúčeniny A nachádzajúcej sa v

každom z týchto prípravkov sa analyzoval vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou . Výsledky sú uvedené v Tabuľke 4.

Tabuľka 4
Skladovacia stabilita zlúčeniny A (pri 60 °C, 30 dní)

Príklad č.	Obsah zlúčeniny A (%)
príklad 1	100,0
príklad 2	100,4
príklad 3	99,3
príklad 4	97,6

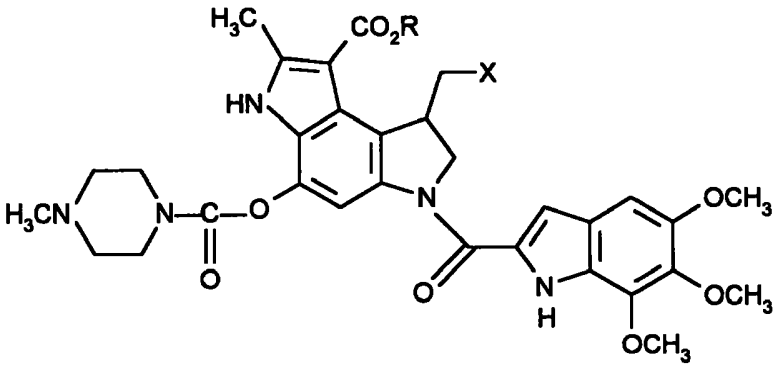
Z výsledkov uvedených v Tabuľke 4 je zrejmé, že stabilita lyofilizovaného prípravku obsahujúceho zlúčeninu A sa zlepšila prídavkom sacharidu.

Priemyslová využiteľnosť

Predložený vynález poskytuje spôsob stabilizácie duokarmycínových derivátov a prípravkov, ktoré ho obsahujú.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob stabilizácie derivátu duokarmycínu predstaveného všeobecným vzorcom I:



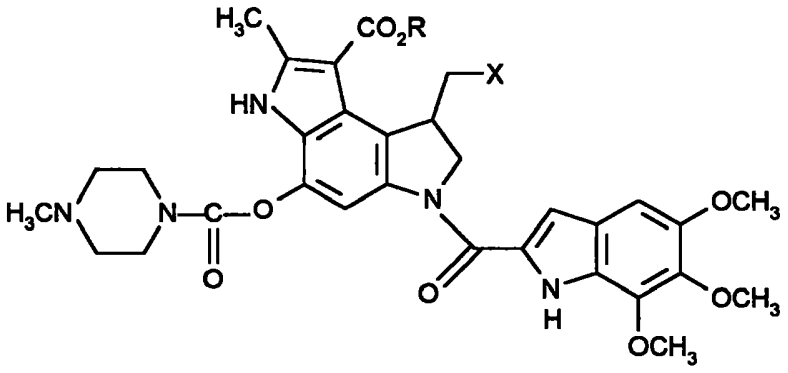
(I)

v ktorom R predstavuje nižšiu alkylovú skupinu, alylovú skupinu alebo benzylovú skupinu, a X predstavuje atóm chlóru alebo atóm brómu, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že k roztoku obsahujúcemu uvedený duokarmycínový derivát sa pridá aspoň jedna zlúčenina vybraná zo skupiny obsahujúcej sacharid, elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid.

2. Spôsob podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že roztok obsahujúci uvedený derivát duokarmycínu a sacharidu sa lyofilizuje.

3. Spôsob podľa nároku 2, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že roztok taktiež obsahuje aspoň jednu ďalšiu zlúčeninu vybranú zo skupiny obsahujúcej elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid.

4. Farmaceutický prípravok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrtňuje derivát duokarmycínu predstavený všeobecným vzorcom I:



(I)

ktorý sa získa lyofilizáciou kyslého roztoku obsahujúceho duokarmycínový derivát a aspoň jednu zlúčeninu vybranú zo skupiny obsahujúcej sacharid, elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid.

5. Lyofilizovaný farmaceutický prípravok podľa nároku 4, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že roztok pred lyofilizáciou obsahuje derivát duokarmycínu a sacharid.

6. Lyofilizovaný farmaceutický prípravok podľa nároku 5, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že roztok pred lyofilizáciou tiež obsahuje aspoň jednu zlúčeninu vybranú zo skupiny obsahujúcej elektrolyt, vo vode rozpustný polymér, viacsýtny alkohol a tenzid.