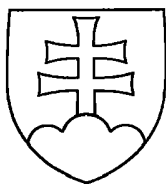


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania prihlášky: **15. 11. 1999**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **09/192 933**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **16. 11. 1998**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **6. 11. 2001**
Vestník ÚPV SR č. **11/2001**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US99/27050**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO00/29025**

(11), (21) Číslo dokumentu.

667-2001

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ .

A61K 47/18,
A61K 31/66,
A61K 9/19

(71) Prihlasovateľ: **Medimmune Oncology, Inc., West Conshohocken, PA, US;**

(72) Pôvodca: **Stogniew Martin, Bue Bell, PA, US;**
Zadei Javad M., West Chester, PA, US;

(74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, Sk;**

(54) Názov: **Dávková forma amifostínu a spôsob jej prípravy**

(57) Anotácia.

Sterilné, stále dávkové liekové formy, vhodné na rekonštitúciu a parenterálne podávanie pacientovi obsahujú amorfný aminoalkylidihydrogenfosforotioát, najmä amifostín. Je opísaný aj spôsob prípravy uvedených dávkových liekových foriem, ktoré majú zvýšenú tepelnú stálosť v porovnaní s doterajším vákuovo sušeným amorfným amifostínom.

SK 667-2001 A3

Dávková forma amifostínu a spôsob jej prípravy

Oblasť techniky

Vynález sa týka tepelne stálych dávkových liekových foriem S-2-(3-aminopropylamino)etyl-dihydrogenfosforotioátu (amifostínu) a spôsobov ich prípravy. Rekonštituované dávkové formy podľa tohto vynálezu sú vhodné na podávanie človekovi, napríklad ako ochranný prostriedok pri ožarovaní, ožiarení alebo ako ochranný prostriedok pri chemoterapii.

Doterajší stav techniky

Zlúčenina S-2-(3-aminopropylamino)etyl-dihydrogenfosforotioát (známa ako amifostín, ethiofos, Ethyol[®], NSC 296961 a WR-2721 a ktorá sa v ďalšom texte označuje "amifostín") a ďalšie aminotiolové zlúčeniny sa opisujú v patente USA 3 892 824. Uvedené zlúčeniny boli pôvodne vyvinuté ako ochranné látky proti ožiareniu (protiradiačné látky, rádioprotektantá), najmä na použitie pred expozíciou röntgenovým žiarením alebo jadrovým žiarením na ochranu proti škodlivým účinkom expozície, s ktorou sa možno stretnúť v priebehu vojenských konfliktov.

Popri využití na vojnové účely ako protiradiačná látka má amifostín vynikajúce využitie ako ochranná látka proti žiareniu a ako ochranná látka pri chemoterapii v nevojenskej oblasti, to znamená ako ochranný prostriedok, podávaný pred terapiou na zníženie nežiaducich škodlivých účinkov, ktoré nastávajú vplyvom chemoterapie a/alebo radiačnej terapie pri liečbe rakoviny. Nygaard a ďalší, editori, Radioprotectors and Anticarcinogens, strany 73 až 85, Academic Press, Inc., New York 1983; Grdina a ďalší, Carcinogenesis (Londýn) 6, 929 až 931 (1985). O týchto zlúčeninách sa ďalej uvádza, že poskytujú ochranu proti škodlivým účinkom chemoterapeutických látok, napríklad alkylačných činidiel ako je cisplatín, ak sa podávajú pred alebo konkurenčne s chemoterapeutickými látkami. Jordan a ďalší, Exp. Mol. Pathol. 36, 297 (1982); Doz a ďalší, Cancer Chemother. Pharmacol. 28, 308 (1991). Podobne sa uvádza, že sa amifostín použil experimentálne pred terapiou na ochranu HIV-infikovaných pacientov (AIDS) proti

škodlivým účinkom pri terapii 3'-azido-3'-deoxytymidínom (AZT). Medzinárodne publikovaná prihláška WO 90/14 007 z 29. novembra 1990. Ukázalo sa, že amifostín a jeho deriváty majú uvádzané ochranné účinky bez toho, aby nepriaznivo ovplyvňovali prospešné vlastnosti podávaných terapeutických látok; usudzuje sa, že napríklad v prípade chemoterapie, je účinok založený na selektívnom prijme ochranných tiolových a ďalších metabolitov do normálneho tkaniva. Yuhas, Cancer Res. 40, 1519 až 1524 (1980); Yuhas, Cancer Treat. Rep. 63, 971 až 976 (1979).

Zistilo sa, že amifostín a príbuzné aminotiolové zlúčeniny stimulujú rast kostnej drene. Pozri napríklad medzinárodne zverejnenú prihlášku WO 96/25 045 z 22. augusta 1996; a List a ďalší, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 15, 449 [1403] [abstrakt]. Amifostín je v súčasnosti v II. fáze klinických pokusov ako stimulant rastu kostnej drene u pacientov, trpiacich myelodysplastickým syndrómom. Predexpozícia aminotiolovými zlúčeninami je schopná vyvolať po chemoterapii rýchlejšie obnovenie funkcie kostnej drene. List a ďalší, Semin. Oncol. 23(4), suppl. 8, 58 až 63 (1996).

V súčasnosti sa amifostín indikuje na zníženie kumulatívnej renálnej toxickosti spojenej s opakovaným podávaním cisplatínu u pacientov s pokročilou rakovinou vaječníka alebo rakovinou pľúcnych buniek. Physicians' Desk Reference, 52nd ed., strany 500 až 502 (1998).

Amifostín sa považuje za prekurzor liečiva. Amifostín sa metabolizuje na bunkovo-ochranný voľný tiol defosforyláciou, katalyzovanou alkalickou fosfatázou. Pozri napríklad Ryan S. V. a ďalší, J. Clin. Pharm. 36(4) 365 až 373 (1996). Pre selektívny príjem tiolu do normálneho tkaniva sa ochranné účinky amifostínu prejavujú bez toho, aby amifostín významne ovplyvňoval prospešné vlastnosti podávaných terapeutických látok.

Najčastejšie podávanie amifostínu je parenterálne podávanie, vrátane injekcií a intravenózných infúzií. Amifostín bol vyvinutý tiež na subkutánne podávanie. Pretože tieto spôsoby podávania prekonávajú ochranné bariéry ľudského tela, musí sa dodržiavať výnimočná čistota dávkových foriem. Pretože dávkové formy nesmú obsahovať mikroorganizmy a nerozpustené častice, spôsob výroby liekových prostriedkov musí spĺňať pokyny správnej výrobnéj praxe (Good Manufacturing Practices, "GMP") tak, aby sa zabezpečila vyžadovaná akosť výrobku, najmä z

hladiska sterilnosti a terapeutickej účinnosti. Sterilnosť preparátov je výnimočne dôležitá pri liečbe pacientov trpiacich rakovinou alebo AIDS, pretože v mnohých prípadoch sú pacienti už imuno-kompromisní a preto vysoko citliví na infekcie.

Kompaktná forma liečiva amifostínu (ktorá je rozdielna od dávkovej formy) môže jestvovať ako kompaktný kryštalický trihydrát o ktorom sa usudzuje, že je pomerne teplotne stály. Táto kryštalická forma sa opisuje v práci Karle a ďalších, *Acta Cryst. C44*, 153 až 158 (1988). Kompaktné liečivo nie je ale sterilné a nemôže sa rekonštituovať na farmaceutický prostriedok, vhodný na parenterálne podávanie ľuďom.

V Remington's Pharmaceuticals Sciences, 18. vydanie (1990) sa opisuje niekoľko spôsobov sterilizácie kompaktného liečiva. Uvedené spôsoby zahŕňajú napríklad sterilizáciu parou, pričom sa liečivo vystaví účinku vysokotlakovej pary pri teplote najmenej 121 °C. Tento spôsob a aj ďalšie spôsoby, ktoré vyžadujú ohrev nemožno účinne použiť na sterilizáciu kompaktného kryštalického amifostínu. Je to preto, lebo amifostín stráca viazanú vodu pri približne 70 až 75 °C. Strata vody uľahčuje degradáciu hydrolyznou reakciou, ktorou sa tvorí kyselina fosforečná a 2-[(3-aminopropyl)amino]etánol. Pozri napríklad Risley J. M. a Van Etten R. I., *Biochem. Pharmacol.* 35, 1453 až 1458 (1986). Amifostín sa preto sterilizuje rozpustením a sterilizáciou pripraveného roztoku membránovou filtráciou. Obchádzajú sa tak vážne praktické problémy, súvisiace s balením kompaktného, tuhého amifostínu spôsobom "suchého plnenia" alebo "práškového plnenia". Tieto problémy zahŕňajú ťažkosti s prípravou sterilného kompaktného amifostínu, manipulačné ťažkosti pri ručnej manipulácii s práškami, potrebu mlieť prášky na potrebnú veľkosť častíc a na dosiahnutie vhodnej sypkosti, ťažkosti s udržiavaním bezčasticových aseptických podmienok výroby a ťažkosti s dodávaním presných dávok do jednotlivých nádobiek.

Amifostín v roztoku je ale citlivý na degradáciu hydrolyzou. Z tohto dôvodu sa amifostínový roztok najprv sterilizuje filtráciou a potom sa lyofilizuje (sušenie vymrazovaním) v nasledujúcich podmienkach: približne 5 ml roztoku 100 mg amifostínu v 1 ml roztoku a 100 mg manitolu v 1 ml roztoku sa v liekovkách vloží do vymrazovača pri 0 °C a potom sa zmrazí na -45 °C. Liekovky sa 2 hodiny udržiavajú pri -45 °C, potom sa vymrazovacia komora evakuuje na 13,33 Pa (100 µm Hg).

Teplota sa potom v priebehu 12 hodín nechá samovoľne zvýšiť na 0 °C a potom sa 2 hodiny udržiava pri 0 °C. Teplota preparátov sa nakoniec zvýši na 25 °C a pri tejto teplote sa preparáty udržiavajú 24 hodín. Tento spôsob umožňuje pripraviť sterilnú amorfnú formu amifostínu, vhodnú na parenterálne podávanie pacientovi (tento preparát sa v ďalšom označuje "amorfný amifostín I"). Physicians' Desk Reference, 51. vydanie (1977). Tento spôsob teda umožňuje ľahkú výrobu liekoviek, obsahujúcich vopred určené množstvá sterilného, lyofilizovaného amifostínu.

Amorfný amifostín I je ale tepelne nestály a pri teplotách vyše 0 °C časom hydrolyzuje. Typická vzorka amorfného amifostínu I, udržiavaná mesiac pri 25 °C vytvorila 6 až 7 % rozkladného produktu 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu. To bol stav, kedy amorfná forma amifostínu bola úradne povolená ako forma so skladovateľnosťou 24 mesiacov uloženia pri teplotách medzi 2 °C a 8 °C. Pozri napríklad: Ethyol[®] European Summary of Product Characteristics (1997) ("Ethyol[®] SmPC"). V skutočnosti sa amorfná dávková forma amifostínu I vo všeobecnosti balila, dodávala a uchovávala pri teplotách nižších ako 8 °C. V Spojených štátoch sa amorfná forma amifostínu ďalej povolila Úradom pre potraviny a liečivá (Food and Drug Administration) ako forma s 15 mesačnou skladovateľnosťou, ak je uložená pri teplotách medzi 2 °C a 8 °C.

Teplotná nestálosť vyžaduje od výrobcov a užívateľov dodržiavať požiadavky na balenie, skladovanie a dopravu, ktoré zvyšujú náklady na manipuláciu s liečivým prostriedkom a spôsobuje ťažkosti pri použití v nemocniciach a klinikách; teplotná nestálosť uvedeného farmaceutického prostriedku môže tiež zabrániť používaniu v rozvojových krajinách, v ktorých často nie sú možnosti na uloženie a uchovávanie farmaceutických prostriedkov v priestoroch s ovládanou teplotou.

V súvislosti so zistením potreby dávkovej formy amifostínu, ktorý by bol viac teplotne stabilnejší ako amorfný amifostín I sa výskum sústredil na nájdenie nových, stálych a sterilných foriem amifostínu. Napríklad Jahansouz a spolupracovníci študovali stabilitu amifostínu a tvrdia, že teplotná nestabilitosť amorfného amifostínu I je závislá od obsahu vody. Jahansouz H. a ďalší, Pharm. Res. 7(9) S195 (1990) [abstrakt].

Nedávno sa výskumníci sústredili na vytvorení stálych a sterilných kryštalických dávkových foriem miesto toho, aby zvyšovali teplotnú stálosť

dávkových foriem amorfného amifostínu ako je amorfný amifostín I. Napríklad sa uvádza, že v amifostíne "nastávajú vplyvom prostredia pri vymrazovaní s premenlivou vlhkosťou fázové premeny v tuhom stave z amorfnej formy na kryštalické fázy". Ďalej, že stálosť rehydratovaných foriem amifostínu sa údajne zvýšila prídavkom určitých pomocných látok, Zadeii J. M. a ďalší, Pharm. Res. 8(10), S172 (1991) [abstrakt]. Uvedený abstrakt ale podrobne neopisuje rehydratačný proces, ani stupeň dosiahnutej stabilizácie vplyvom dvoch opísaných pomocných látok. Naviac abstrakt neuvádza podrobnosti ako a kedy treba jednotlivé pomocné látky kombinovať s amifostínom, aby sa získali údajne viac stále rehydratované formy (to znamená, či pomocné látky sa kombinujú s amifostínom pred, počas alebo po jeho rehydratácii), alebo či sa uvedený spôsob líši podľa použitej pomocnej látky. Nakoniec bola ale objavená nová dávková forma sterilného, tepelne stáleho kryštalického amifostínu. Patenty USA 5 424 471 a 5 591 731.

Sterilná dávková forma kryštalického amifostínu sa v súčasnosti predáva s obchodným označením Ethyol[®]. Physician's Desk Reference, 52. vydanie (1998), strany 500 až 502. Kryštalová štruktúra a príprava dávkovej formy, ktorá má vyššiu tepelnú stálosť ako amorfný amifostín I sa opisuje v patentoch USA 5 424 471 a 5 591 731. Vo všeobecnosti sa táto tepelne stála dávková kryštalická forma pripraví rozpustením kompaktného amifostínu v rozpúšťadle (ktoré umožňuje vyžrážanie amifostínu po ochladení pod 0 °C), nasleduje sterilizácia, vyžrážanie a lyofilizácia zlučieniny. Pretože sa jedná o kryštalickú a preto stálu amifostínovú dávkovú formu, táto forma vyžaduje tri molekuly vody na molekulu zlučieniny; lyofilizácia na konečný produkt sa musí uskutočniť v starostlivo volených podmienkach, aby sa zabezpečil vyžadovaný stupeň hydratácie. Pripravenú stálu kryštalickú dávkovú formu možno skladovať bez významnej degradácie pri teplote miestnosti; ak sa táto dávková forma udržiava 14 dní pri teplote 40 °C, má stupeň rozkladu iba 2 % hmotnostné. Patent USA 5 591 731.

Hoci novo vyvinuté sterilné kryštalické dávkové formy amifostínu znižujú alebo eliminujú mnohé problémy spojené s amorfným amifostínom I, ich výroba môže byť nákladná, obtiažna a/alebo nebezpečná. Tak výroba kryštalického Ethyolu[®] napríklad vyžaduje použitie výbušných rozpúšťadiel, s ktorými treba

opatrne narábať a prísne dbať, aby boli v styku s kyslíkom. Tieto rozpúšťadlá obsahujú tiež nečistoty netypické pre vodu a treba ich odstrániť aby sa zabezpečilo, že dávková forma bude vhodná na rekonštitúciu a podanie pacientovi. Napríklad etanol často obsahuje acetón, metanol, kyselinu sírovú, manganistan a ďalšie toxické zvyšky. Pozri: Aldrich Catalog (1998 - 1999), strany 746 až 747. Na zabezpečenie dokonalej hydratácie amifostínu výroba kryštalických dávkových amifostínových foriem ďalej vyžaduje dlho trvajúcu lyofilizáciu.

Z hľadiska hore opísaných a ďalších ťažkostí, spojených s výrobou sterilných dávkových foriem kryštalického amifostínu trvá potreba stálej, sterilnej, amorfnej dávkovej formy ako aj hospodárny a nie nákladný spôsob jej výroby.

Tento vynález zahŕňa tiež ne-sterilný a/alebo kompaktný tepelne stály amifostín. Podľa vedomia prihlasovateľov vynálezu amorfný, tepelne stály amorfný amifostín nebol doteraz zverejnený. Vo výhodných uskutočneniach tohto vynálezu vynález zahŕňa tepelne stále dávkové formy amifostínu.

Podstata vynálezu

Vynález zahrnuje ne-sterilný a/alebo kompaktný tepelne stály amorfný amifostín. Podľa vedomia prihlasovateľov vynálezu nebol doteraz zverejnený amorfný tepelne stály amifostín. Vo výhodných uskutočneniach tohto vynálezu vynález zahŕňa tepelne stále dávkové formy amifostínu.

Vynález zahŕňa nasledujúce tepelne stále a sterilné dávkové formy: dávkovú formu s obsahom amorfného amifostínu; amorfnú dávkovú formu s obsahom amifostínu; a dávkovú formu s obsahom amorfného amifostínu, ktorá je vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný prostriedok, prostý častíc, vhodný na parenterálne podávanie subjektu.

Vynález zahŕňa tiež dávkovú formu, stálu pri teplote miestnosti, obsahujúcu sterilný amorfný amifostín.

Vynález tiež zahŕňa amorfnú dávkovú formu, stálu pri teplote miestnosti, obsahujúcu sterilný amorfný amifostín.

Vynález je ďalej zameraný na zmrazenú stálu dávkovú formu, obsahujúcu sterilný amorfný amifostín.

Uvedené dávkové formy podľa tohto vynálezu môžu obsahovať stabilizátor. Je výhodné, ak molový pomer stabilizátora k amifostínu je medzi približne 0,05 a približne 5,0, výhodnejšie medzi približne 0,1 a približne 1,0 a najvýhodnejšie medzi približne 0,2 a približne 0,5. Výhodné stabilizátory sú zlúčeniny, ktoré majú amidové alebo aminokyselinové štruktúrne zoskupenia. Výhodným stabilizátorom je nikotínamid.

Uvedená dávková forma podľa tohto vynálezu môže obsahovať pomocnú látku. Vhodné pomocné látky zahŕňajú (ale nie sú na ďalej uvedené obmedzené) chlorid sodný, kyselinu citrónovú, kyselinu vínnu, želatínu, polyvinylpyrolidón (PVP), kyselinu dietyléntriámín-pentaoctovú (DPTA), kyselinu etyléndiamíntetraoctovú (EDTA), deoxycholát sodný, taurocholát sodný a sacharidy ako je (bez obmedzenia) dextróza, sacharóza, sorbitol, dextrán, manitol a sodná soľ karboxymetylcelulózy. Dávkové formy môžu obsahovať tiež až do približne 20 % vody bez významného zníženia tepelnej stálosti prostriedku.

Výhodná dávková forma podľa tohto vynálezu obsahuje amorfný amifostín, nikotínamid a PVP.

Vynález je ďalej zameraný na spôsob prípravy tepelne stálej a sterilnej amorfnej dávkovej formy amifostínu a na výrobok pripravený uvedeným spôsobom.

Vysvetlenie pojmov

Výraz "kompaktný amifostín", alebo "kompaktné liečivo" sa tu používa tak, že znamená formu amifostínu, ktorá sa použije na prípravu dávkových foriem, ale sama nie je vhodná na parenterálne podávanie pacientovi. Uvedený výraz zahŕňa amifostín opísaný v patente USA 3 892 824 vrátane (ale bez obmedzenia na) mono-, di- a trihydrátových foriem amifostínu.

Použitý výraz "kryštalický" na opis zložky alebo produktu znamená, že zložka alebo produkt sú kryštalické podľa röntgenovej difrakčnej analýzy. Pozri napríklad: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. vydanie, strana 173; The United States Pharmacopeia, 23. vydanie (1995), strany 1843 až 1844.

V opise používaný výraz "amorfný" znamená, že príslušná zložka alebo produkt nie je kryštalický podľa röntgenovej difrakčnej analýzy.

Je zrejmé, že viaczožkový produkt, napríklad produkt obsahujúci amifostín, pomocné látky a/alebo stabilizátory môže mať niektoré zložky kryštalické a iné amorfné, napríklad amorfný amifostín, kryštalickú pomocnú látku a/alebo stabilizátor.

Používané výrazy "degradácia" a "rozklad", ak sú v spojení s amifostínom, vzťahujú sa na vznik 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu (WR1065) a kyseliny fosforečnej z amifostínu.

Výraz "amorfný amifostín I" znamená dávkovú formu amifostínu, ktorá obsahuje amorfný amifostín a tento amifostín poskytuje za 2 roky v priemere približne 3,5 % rozkladného produktu (to znamená 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu) pri 5 °C. Příklad prostriedku amorfného amifostínu I sa opisuje v časti "Doterajší stav techniky".

Výraz "amorfný amifostín II" sa vzťahuje na dávkovú formu podľa tohto vynálezu, ktorá je vhodná na rekonštitúciu a parenterálne podávanie pacientovi. Výraz amorfný amifostín II sa vzťahuje najmä na dávkovú formu amorfného amifostínu, opísanú v tomto texte.

Výrazy "stabilný", "stály", "tepelne stály" a "teplotne stály" sa vzťahujú na schopnosť farmaceutického prostriedku alebo zlúčeniny odolávať degradácii alebo rozkladu pri uložení pri príslušnej teplote určený čas, výhodne v ochrannej atmosfére. Postup stanovenia stálosti sa uvádza ďalej.

Výraz "tepelne stály" sa tu používa tak, že znamená stálejší ako amorfný amifostín I (to znamená ako doterajšia komerčná amorfná dávková forma, opísaná v časti "Doterajší stav techniky").

Výraz "stabilizátor" znamená zlúčeninu alebo zmes zlúčenín, ktorá, ak sa v dostatočnom množstve zmieša s kompaktným amifostínom a použije na výrobu amifostínovej dávkovej formy zvyšuje tepelnú stálosť vyrobenej dávkovej formy, napríklad znížením časom vznikajúceho množstva 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu.

Rozsah čísel alebo hodnôt, používaných tu na opis rozmedzia pomocou výrazu "medzi", zahŕňa aj uvedené jednotlivé čísla alebo hodnoty.

Používaný výraz "mesiac" znamená časové obdobie medzi približne 26 dní a 33 dní.

Výraz "hmotnostné percentá", ak sa používa na opis podielu rozkladného produktu v dávkovej forme, znamená podiel hmotnosti rozkladného produktu vzhľadom na hmotnosť amifostínu, pôvodne prítomného v dávkovej forme.

Ako je známe odborníkom v danej oblasti, na stanovenie stálosti možno použiť urýchlené skúšobné postupy a rôzne teploty. Pozri napríklad Lachman L. a ďalší, *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, strany 766 až 767 (1986). Čím menej sa zlúčeniny alebo zmesi zlúčenín rozkladá pri uchovávaní pri určitej teplote určitý čas, tým je zlúčenina, alebo zmes zlúčenín, tepelne stálejšia.

Výrazy "chladenie" alebo "podmienky chladenia" znamenajú tu udržiavanie teploty medzi približne 1 °C a približne 8 °C.

Výrazy "mrazenie" alebo "podmienky zmrazovania" znamenajú tu udržiavanie teploty pod 10 °C, najmä medzi približne 0 °C a -20 °C.

Výraz "bez častíc" alebo "prostý častíc" znamená roztok, ktorý je sterilný, vhodný na injekciu, intravenóznú infúziu alebo subkutánne podanie a vyhovuje požiadavke skúšky na prítomnosť častíc, opísanej v *US Pharmacopeia*, strana 1816 (23. vydanie, 1995). Bližšie, roztok je prostý častíc, ak priemerný počet častíc, ktoré majú priemer väčší ako 10 µm v roztoku nepresahuje 6 000 na nádobku a priemerný počet častíc, ktoré majú priemer väčší ako 25 µm v roztoku nepresahuje 600 na nádobku.

Ešte pred týmto vynálezom bola dostupná farmaceuticky použiteľná dávková forma amorfného amifostínu (amorfný amifostín I), ktorá bola tepelne nestála a mohla typicky poskytovať napríklad 6 hmotnostných percent produktu degradácie (to znamená 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu), ak sa uchovávala mesiac pri 25 °C. Pretože bol amorfný amofostín I tepelne nestály, typicky sa dopravoval a skladoval pri nízkych teplotách (všeobecne pri 8 °C, napríklad pri približne pri 5±3 °C), aby sa predchádzalo degradácii výrobku. Tento vynález teraz poskytuje dávkovú formu amorfného amifostínu (amorfný amifostín II), ktorá je neočakávateľne stálejšia ako amorfný amifostín I.

Vynález možno použiť na ďalšie aminoalkyldihydrogenfosforotiáty a tak pripravovať stálejšie dávkové formy týchto aminoalkyldihydrogenfosforotiátov. Aminoalkyldihydrogenfosforotiáty, vhodné na použitie v tomto vynáleze zahŕňajú, ale nie sú na ďalej uvedené obmedzené, S-2-(3-aminopropylamino)etyl-dihydrogen-

fosforotioát (amifostín), S-2-(3-metylaminopropylamino)etyl-dihydrogenfosforotioát (WR-3689), S-2-(3-etylaminopropylamino)etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(3-amino-propylamino)-2-metylpropyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(2-aminoethylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(4-aminobutylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(5-aminopentylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(6-aminohexylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(2-metylaminooethylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, S-2-(3-metylaminopropylamino)-2-etyl-dihydrogenfosforotioát, 1-propántiol-3-[[3-(metylamino)propyl]amino]-dihydrogenfosforotiorát (WR-151327) a jeho voľnú tiolovú formu (WR-151326) a disulfid [2-[(aminopropyl)amino]etántiol]-N,N'-ditioidi-2,1-etándiyl)bis-1,3-propándiamín (WR-33278). Vo výhodnom uskutočnení tohto vynálezu aminoalkyldihydrogenfosforotioát je amifostín.

Podrobnejšie, vynález sa týka farmaceutickej dávkovej formy amorfného amifostínu, vhodnej na rekonštitúciu a parentálne podávanie pacientovi; uvedenú formu možno bežne dopravovať, skladovať a narábať s ňou pri teplote miestnosti a pri nižších teplotách, pričom nastáva menšia degradácia výrobku ako v prípade amorfného amifostínu I. Dávkové formy podľa tohto vynálezu (napríklad amorfný amifostín II) tak riešia dlho pociťovanú potrebu tepelne stáleho prostriedku; vynález umožňuje, aby sa s pomerne nízkymi nákladmi vyrobili dávkové formy amifostínu, ktoré možno ľahšie dopravovať do nemocníc a kliník a skladovať v nemocniciach a klinikách s nedostatkom priestorov s riadenou a udržiavanou teplotou, aké vyžaduje amorfný amifostín I.

Vynález je z časti založený na neočakávanom zistení, že zmesi určitých množstiev niektorých zlúčenín a amifostínu možno použiť na výrobu amorfných dávkových foriem amifostínu, ktoré sa vyznačujú zníženými rýchlosťami rozkladu. Tieto určité látky sa tu označujú "stabilizátory". Bez nárokov na teoretické obmedzenia autori vynálezu usudzujú, že uvedené stabilizátory vstupujú do Van der Waalsovských alebo podobných slabých medzimolekulových interakcií s atómom síry amifostínu. Tieto interakcie môžu brániť aktivácii (to znamená protonácii) uvedeného atómu síry. Tieto stabilizátory môžu tiež inhibovať interakciu vody s atómom fosforu amifostínu a predchádzať tak nukleofilnému náporu na uvedený atóm.

Zistilo sa, že prítomnosť niektorých stabilizátorov ovplyvňuje výsledky stanovovania obsahov amifostínu vo vzorkách dávkových foriem; preto na určovanie stálosti dávkových foriem, obsahujúcich stabilizátory sa výhodne používa stanovovanie vzniklých amifostínových rozkladných alebo rozkladných produktov v závislosti od teploty a času miesto stanovovania samotného amifostínu. Uvedené rozkladné a rozkladné produkty zahŕňajú (ale nie sú na ďalej uvedené obmedzené) 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiol, čo je primárny rozkladný produkt amifostínu) a kyselinu fosforečnú.

Zistilo sa tiež, že stálosť uvedených dávkových foriem amorfného amifostínu závisí od podmienok vymrazovacieho procesu, použitého na ich prípravu; ďalej sa zistilo, že samotné jednoduché zmiešanie amifostínu a stabilizátora nevyhnutne neposkytuje stálejšiu dávkovú formu. Ešte neočakávanejšie je zistenie, že v rozpore s doteraz uznávanými názormi v odbore môžu byť stále aj dávkové formy amorfného amifostínu, obsahujúce rôzne podiely vody.

Podľa uvedeného je tento vynález zameraný na tepelne stálu formu amifostínu. Podrobnejšie, vynález je zameraný na dávkovú formu, ktorá sa vyznačuje menšou degradáciou ako 5 % hmotnostných pri uchovávaní týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; výhodné je, ak sa dávková forma vyznačuje menšou degradáciou ako 4 % hmotnostné pri uchovávaní týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; ešte výhodnejšie je, ak sa dávková forma vyznačuje menšou degradáciou ako 3 % hmotnostné pri uchovávaní týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

Ďalšie uskutočnenie dávkovej formy podľa tohto vynálezu sa vyznačuje menšou degradáciou ako 5 % hmotnostných po mesačnom uchovávaní pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; výhodné je, ak uskutočnenie dávkovej formy podľa tohto vynálezu sa vyznačuje menšou degradáciou ako 4 % hmotnostné po mesačnom uchovávaní pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; ešte výhodnejšie je, ak sa uskutočnenie dávkovej formy podľa tohto vynálezu vyznačuje menšou degradáciou ako 3 % hmotnostné po mesačnom uchovávaní pri 25 °C;

uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; najvýhodnejšie je, ak uskutočnenie dávkovej formy podľa tohto vynálezu sa vyznačuje menšou degradáciou ako 2 % hmotnostné po mesačnom uchovávaní pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

V inom uskutočnení tohto vynálezu sa dávková forma podľa tohto vynálezu vyznačuje degradáciou menšou ako 3 % hmotnostné po dvojročnom uchovávaní pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; výhodné je, ak sa dávková forma podľa tohto vynálezu vyznačuje degradáciou menšou ako 2 % hmotnostné po dvojročnom uchovávaní pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu; výhodnejšie je, ak sa dávková forma podľa tohto vynálezu vyznačuje degradáciou menšou ako 1 % hmotnostné po dvojročnom uchovávaní pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

V ďalšom uskutočnení tohto vynálezu je vynález zameraný na tepelne stálu dávkovú formu, obsahujúcu v podstate amorfný amifostín. Výhodné je, ak tepelne stála dávková forma obsahuje amifostín, ktorý je najmenej z 80 % hmotnostných amorfný. Výhodnejšie je, ak tepelne stála dávková forma obsahuje amifostín, ktorý je najmenej z 90 % hmotnostných amorfný. Tento vynález zahŕňa tiež tepelne stálu dávkovú formu, obsahujúcu amorfný amifostín.

V inom uskutočnení je tento vynález zameraný na tepelne stálu, v podstate amorfnú dávkovú formu, obsahujúcu amifostín. Výhodné je, ak amorfný podiel tepelne stálej dávkovej formy je najmenej 80 % hmotnostných. Výhodnejšie je, ak amorfný podiel tepelne stálej dávkovej formy je najmenej 90 % hmotnostných. Tento vynález zahŕňa tiež amorfnú tepelne stálu dávkovú formu, obsahujúcu amifostín.

Ďalšie uskutočnenie tohto vynálezu zahŕňa tepelne stálu dávkovú formu, ktorá má obsah vody medzi približne 0 a 20 % hmotnostnými, výhodne medzi približne 0 a 15 % hmotnostnými a výhodnejšie medzi približne 0,5 a 6 % hmotnostnými.

Vynález je ďalej zameraný na tepelne stálu dávkovú formu amifostínu, ktorá obsahuje jeden alebo viac stabilizátorov a voliteľne jednu alebo viac pomocných látok. Je výhodné, ak molový pomer stabilizátora k amifostínu je medzi približne

0,05 a 5,0, výhodnejšie medzi približne 0,1 a 1,0 a najvýhodnejšie medzi približne 0,2 a 0,5.

Podobne ako hore, tepelne stála dávková forma, obsahujúca jeden alebo viac stabilizátorov a voliteľne jednu alebo viac pomocných látok, môže obsahovať vodu v rozmedzí medzi približne 0 a 20 % hmotnostnými, výhodnejšie medzi približne 0,5 a 6 % hmotnostnými. Každú z dávkových foriem podľa tohto vynálezu možno vyrobiť vo forme vhodného kusového produktu (napríklad rozpustného v priebehu menej ako 60 sekúnd).

Vynález je ďalej zameraný na spôsob prípravy tepelne stálej dávkovej formy amorfného amifostínu. V uvedenom spôsobe sa amifostín môže kombinovať s jedným alebo viacerými stabilizátormi a/alebo jednou alebo viacerými pomocnými látkami. Ako sa objasňuje v ďalšom opise, uvedený spôsob zahŕňa všetky spôsoby, ktorými možno amifostín, vodu, stabilizátory a pomocné látky kombinovať v akomkoľvek poradí pred, počas, pri vytváraní *in situ*, alebo po lyofilizácii kompaktného amifostínu. Nakoľko na prípravu dávkovej formy podľa tohto vynálezu možno použiť niekoľko rôznych stabilizátorov, každý z ich možno v spôsobe prípravy kombinovať spolu alebo oddelene s amifostínom v akomkoľvek poradí.

Zistilo sa, že najmä z hľadiska hospodárnosti a výkonnosti prípravy tepelne stálej dávkovej formy amorfného amifostínu (napríklad amorfného amifostínu II) je ale vhodné pripraviť roztok, obsahujúci kompaktný amifostín, stabilizátor a voliteľne pomocnú látku. Podľa tohto vynálezu sa potom sterilnou filtráciou upraveným roztokom, ktorý obsahuje amifostín a voliteľne stabilizátor a/alebo pomocnú látku, naplnia liekovky. Výhodou tohto spôsobu je, že rozpúšťadlom na prípravu roztoku môže byť čistá voda miesto zmesi etanol/voda, vyžadovanej na prípravu sterilných kryštalických amifostínových farmaceutických protriek. Vynález ale zahŕňa použitie aj iných rozpúšťadiel, najmä vodných rozpúšťadiel, ktoré majú pH hodnoty medzi približne 3 a 11, výhodnejšie medzi približne 6 a 9 a najvýhodnejšie medzi približne 7 a 8. Je známe, že kompaktný amifostín je stálejší v zásaditých roztokoch. Risley J. M. a Van Etten R. L., *Biochem. Pharmacol.* **35**, 1453 až 1458 (1986).

Po naplnení liekoviek amifostínovým roztokom sa liekovky vložia do vymrazovača; vymrazovač sa potom evakuuje. Vymrazovač možno vopred predchladiť. Liekovky sa udržiavajú pri teplote a tlaku dostatočných na to, aby sa

odstranila podstatná časť rozpúšťadla. Ako je známe odborníkom v odbore sušenia, pri vymrazovaní sa teplota liekoviek ku konci vymrazovacieho cyklu zvyšuje, aby sa zabezpečilo odstránenie vyžadovaného podielu rozpúšťadla. V ďalšom sa podrobne opisuje nový spôsob sušenia vymrazovaním; zistilo sa, že týmto spôsobom prípravy vznikajú kúskové produkty, ktoré majú takú konzistenciu a stálosť, ktoré pre nekryštalické dávkové formy doteraz neboli predstaviteľné. Ďalej, spôsob sušenia podľa tohto vynálezu pomáha zabezpečiť, aby sa v dávkovej forme podľa tohto vynálezu (napríklad amorfného amifostínu II), ktorá má obsahovať stabilizátor, dosiahol čo najväčší stabilizačný účinok použitého stabilizátora.

Ďalej uvedené podmienky sušenia vymrazovaním nemožno považovať za obmedzujúce, ale zistilo sa, že amorfný amifostín II sa najľahšie vytvára v spôsobe sušenia vymrazovaním (lyofilizácie), ktorý pozostáva z nasledujúcich krokov: zmrazenie amifostínového roztoku v zmrazovacom cykle za vzniku zmrazenej zmesi; evakuácia (vákuovanie) lyofilizačnej komory; a sušenie zmrazenej zmesi počas primárneho sušiacieho cyklu, ktorý pozostáva najmenej z jedného (primárneho) stupňa sušenia. Uvedený spôsob ďalej zahŕňa ďalšie sušenie v druhom sušiacom cykle, ktorý zahŕňa najmenej jeden ďalší (druhý) stupeň sušenia a/alebo vysušovací spôsob, napríklad použitie vysušovadiel, vysušovača, vysušovacích zátok a podobne. Výhodné je, ak sa po ukončení lyofilizácie do liekoviek obsahujúcich lyofilizovanú dávkovú formu privádza inertný plyn, napríklad dusík.

Je výhodné, ak vymrazovací cyklus trvá približne od hodiny až do približne 15 hodín, výhodnejšie je, ak trvá približne od 2 hodín do asi 10 hodín a najvýhodnejšie je, ak trvá približne 5 až 8 hodín. Výhodné je, ak sa teplota vo vymrazovacej sušiarňi počas vymrazovacieho cyklu udržiava na priemernej hodnote medzi približne $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, výhodnejšie medzi $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, najvýhodnejšie medzi približne $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Takmer pred ukončením, alebo po ukončení cyklu zmrazovania sa vymrazovacia sušiareň evakuuje tak, aby zmrazená zmes bola vystavená takému nízkemu tlaku (vákuu), ktorý je dostatočný na odstránenie rozpúšťadla (ktoré môže byť prítomné ako tekutá a/alebo tuhá fáza) pri priemernej teplote v primárnom cykle sušenia. Ak je rozpúšťadlom voda, výhodné tlaky sú nižšie ako je parciálny tlak

vodnej pary pri danej teplote cyklu sušenia. Parciálne tlaky sa udávajú napríklad v CRC Handbook of Chemistry and Physics, strana D-198 (64. vydanie, 1983 až 1984).

Evakuáciu vymrazovacej sušiarne možno uskutočniť tiež na začiatku alebo po začiatku primárneho cyklu sušenia. Je to preto, aby sa v tomto cyklu zo zmrazenej zmesi odstránilo čo najviac vody alebo iného rozpúšťadla. Tento cyklus sa vyznačuje priemerným tlakom, priemernou teplotou a trvaním, ale môže zahŕňať jeden alebo viac stupňov, pričom každý zo stupňov sa vyznačuje priemerným tlakom, priemernou teplotou a trvaním. Typicky je ale výhodné, ak primárny cyklus sušenia zahŕňa iba jeden stupeň, ktorý trvá približne od 8 hodín do asi 100 hodín, výhodnejšie medzi približne 16 a 86 hodín, najvýhodnejšie medzi 24 a 72 hodín. Je výhodné, ak sa teplota vymrazovacej sušiarne počas primárneho cyklu sušenia udržiava na priemernej hodnote medzi približne -45 °C a 10 °C , výhodnejšie medzi približne -35 °C a 0 °C a najvýhodnejšie medzi približne -30 °C a -10 °C .

Primárny cyklus sušenia možno voliteľne doplniť druhým cyklom sušenia, počas ktorého sa odstráni zvyšková voda alebo rozpúšťadlo. Aj tento cyklus sa vyznačuje priemerným tlakom, priemernou teplotou a trvaním, a môže zahŕňať jeden alebo viac stupňov a každý z týchto stupňov možno charakterizovať priemerným tlakom, priemernou teplotou a trvaním. Typicky je ale výhodné, ak druhý cyklus sušenia zahŕňa iba jeden stupeň, ktorý trvá približne od 0,5 hodiny do približne 48 hodín, výhodnejšie približne medzi 2 hodinami a približne 36 hodinami, najvýhodnejšie približne od 6 hodín do približne 24 hodín. Je výhodné, ak sa teplota vymrazovacej sušiarne počas druhého cyklu sušenia udržiava na priemernej hodnote medzi približne -25 °C a približne 40 °C , výhodnejšie medzi -15 °C a 40 °C a najvýhodnejšie medzi približne 0 °C a 35 °C .

Na ďalšie vysušenie dávkovej formy možno miesto druhého cyklu sušenia, alebo ako dodatok k nemu voliteľne použiť vysušovací prostriedok. Vysušovací prostriedok zahŕňa (ale nie je na ďalej uvedené obmedzený) použitie vysušovadiel, vysušovačov, vysušujúcich zátok a podobne.

Zistilo sa napríklad, že vhodný kúskovitý produkt vzniká v liekovkách vtedy, ak sa naplnené liekovky vložia do vymrazovacej sušiarne udržiavanej medzi približne -20 °C a -15 °C , potom sa teplota obsahu vymrazovacej sušiarne zníži na

približne $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ na tak dlhý čas, ktorý umožňuje dokonalé rovnomerné zmrazenie amifostínového/stabilizátorového roztoku. Komora vymrazovacej sušiarne sa potom evakuuje, čo spôsobuje odstránenie rozpúšťadla. Je výhodné, ak sa tlak udržiava medzi približne $1,333\text{ Pa}$ ($10\text{ }\mu\text{m Hg}$) a $66,65\text{ Pa}$ ($500\text{ }\mu\text{m Hg}$), výhodnejšie medzi približne $9,99\text{ Pa}$ ($75\text{ }\mu\text{m Hg}$) a $26,66\text{ Pa}$ ($200\text{ }\mu\text{m Hg}$) v prípade, že rozpúšťadlo je voda. Po ustálení tlaku sa teplota komory zvýši na hodnotu medzi $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ na dobu, ktorá je dostatočná na odstránenie väčšiny rozpúšťadla. Ako sa podrobnejšie uvádza ďalej zistilo sa, že vhodný kúsokový produkt sa najlepšie vytvára vystavením liekoviek rôznym rozdielnym tlakom a teplotám v časových rozmedziach od minút do dní.

Uvedeným spôsobom sa ukončením lyofilizácie pripravila stála dávková forma amifostínu, obsahujúca amorfný amifostín, ktorá je vhodná na rekonštitúciu na bezčasticový roztok vhodný na parenterálne podávanie pacientovi. Je ale výhodné, ak sa vymrazovacia komora pred uzavretím liekoviek naplní inertným plynom, napríklad dusíkom, argónom alebo xenónom. Zistilo sa, že inertný plyn zlepšuje stálosť dávkovej formy. Liekovky možno potom skladovať a dopravovať pri teplotách, ktoré závisia od vyžadovanej skladovateľnosti dávkovej formy. Veľmi vhodná teplota skladovania je medzi približne $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, najvýhodnejšie približne $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Zistilo sa, že zmenami teploty, času a počtu cyklov sušenia možno získať produkty s rôznou stálosťou a s rôznym obsahom vody; všetky také produkty sú zahrnuté v tomto vynáleze. Na stanovenie obsahu vody možno použiť napríklad titračný postup podľa Karl Fischera.

Podľa tohto vynálezu možno s amifostínom kombinovať akékoľvek množstvo stabilizátora, kým jeho množstvo nepostačuje na zvýšenie tepelnej stálosti lyofilizovaného produktu. Je ale výhodné, ak sa použije medzi približne $0,05\text{ molu}$ a $5,0\text{ molu}$ stabilizátora na $1,0\text{ mol}$ čistého kompaktného kryštalického trihydrátu amifostínu (vzorcová hmotnosť $268\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Výhodnejšie množstvo je medzi $0,1\text{ molu}$ do $1,0\text{ molu}$ a najvýhodnejšie od približne $0,2\text{ molu}$ do $0,5\text{ molu}$ stabilizátora na $1,0\text{ mol}$ kompaktného kryštalického trihydrátu amifostínu. Skúseným v danom odbore je ale zrejmé, že presné pridané množstvo stabilizátora závisí od množstva faktorov, vrátane chemických a farmaceutických vlastností stabilizátora, jeho čistoty,

od obsahu vody v kompaktnom amifostíne. Najmä na posledné treba upozorniť, nakoľko kompaktný amifostín je dostupný v kryštalických formách s rôznym stupňom hydratácie. Kompaktný amifostín sa opisuje ako kryštalická forma, ktorá má od jednej do troch molekúl vody v molekulu amifostínu, ale môže sa nachádzať aj v ďalších formách. Kompaktný amifostín možno pripraviť spôsobom, ktorý sa opisuje v patente USA 3 892 824, ktorý sa tu zahŕňa týmto odkazom.

Stabilizátory podľa tohto vynálezu sú zlúčeniny alebo zmesi zlúčenín, ktoré sú farmaceuticky prípustné a ak sú kombinované s amifostínom, neľahčujú jeho degradáciu v roztoku ale ešte zvyšujú jeho stálosť v tuhej forme pri skladovaní pri teplote miestnosti. Vhodné zlúčeniny zahŕňajú amidy a amíny, ale nie sú na ďalej uvedené obmedzené: nikotínamid, deriváty nikotínamidu, kyselina nikotínová, deriváty kyseliny nikotínovej, a rad prírodných a syntetických aminokyselinových derivátov vrátane (ale nie iba) glycinu, alanínu, valínu, leucínu, izoleucínu, fenyľalanínu, tryprofánu a asparagínu.

Výhodné stabilizátory sú nikotínamid, deriváty nikotínamidu, kyselina nikotínová a deriváty kyseliny nikotínovej. Keď sa použije ako stabilizátor nikotínamid, použije sa v hmotnostnom pomere amifostín : nikotínamid medzi 2:1 až 12:1, výhodnejšie medzi približne 4:1 a 10:1. Najvýhodnejší hmotnostný pomer amifostínu k nikotínamidu je 8:1.

Ďalej sa zistilo, že na získanie vhodných kúskov po lyofilizácii roztoku amifostínu/stabilizátora musí byť koncentrácia kompaktného amifostínu medzi približne 10 mg.ml⁻¹ a približne 200 mg.ml⁻¹, výhodnejšie medzi približne 50 mg.ml⁻¹ a približne 150⁻¹ mg.ml a najvýhodnejšie medzi približne 75 mg.ml⁻¹ a 125 mg.ml⁻¹. Výhodnú koncentráciu stabilizátora (stabilizátorov) možno určiť z molových pomerov amifostínu : stabilizátoru, uvedených hore. Skúsení v danom odbore rýchlo zistia, že na stanovenie vyžadovanej koncentrácie môže mať značný vplyv rozpustnosť vyžadovaných stabilizátorov, ktorú možno nájsť v literatúre.

Ak sa používajú niektoré stabilizátory a koncentrácie stabilizátorov v kombinácii s niektorým lyofilizačným postupom treba popoznamenať, že výsledné produkty môžu byť skôr kryštalické alebo čiastočne kryštalické ako čisto amorfné. Napríklad pri použití nikotínamidu ako stabilizátor v hmotnostnom pomere 4:1 (amifostín : nikotínamid) v podmienkach lyofilizácie podľa tohto vynálezu je niekedy

výsledkom prípravy kryštalická dávková forma. Ďalej môže vznikáť dávková forma s kryštalickým alebo čiastočne kryštalickým stabilizátorom (stabilizátormi) a/alebo pomocnými látkami. Vynález sa ale týka ako amorfných dávkových foriem, tak aj foriem obsahujúcich amorfný amifostín.

Už bolo uvedené, že lyofilizácia kompaktného amifostínu môže voliteľne prebiehať bez prítomnosti stabilizátora. Ak sa lyofilizácia uskutočňuje bez prítomnosti stabilizátora, možno stabilizátor pridať po lyofilizácii. Podobne aj pomocné látky možno do dávkovej formy podľa tohto vynálezu pridávať alebo pred, počas, alebo po sterilizácii a lyofilizácii kompaktného amifostínu. Zistilo sa, že na tento účel sú vhodné pomocné látky, často v kombinácii vrátane (ale bez toho aby boli na ďalej uvedené obmedzené) chloridu sodného, kyseliny citrónovej, kyseliny vínnej, želatíny, polyvinylpyrolidónu (PVP), kyseliny dietyléntriámín-pentaoctovej, kyseliny etyléndiámín-tetraoctovej (EDTA), deoxycholátu sodného, taurocholátu sodného a cukrov ako sú (bez obmedzenia rozsahu) dextróza, sacharóza, sorbitol, inozitol, dextrans, manitol a sodná soľ karboxymetylcelulózy, hoci manitol nepatrí medzi výhodné stabilizátory.

Výhodná pomocná látka je najmä PVP, ktorý je komerčne dostupný s rôznou viskozitou - priemernou molekulovou hmotnosťou. Najvýhodnejší je polyvinylpyrolidón s viskozitou - priemernou molekulovou hmotnosťou 30 (PVP 30). Keď sa PVP použije ako pomocná látka, je výhodné ho použiť v hmotnostnom pomere amifostín : PVP medzi približne 2:1 a približne 50:1, výhodnejšie medzi približne 5:1 a 15:1. Najvýhodnejší hmotnostný pomer amifostínu k PVP je približne 10:1.

Odborníkom v danej oblasti známe, že popri hore uvedených farmaceutických pomocných látkach možno použiť aj ďalšie známe pomocné látky. Je výhodné, ak použitá pomocná látka nie je zdrojom voľných fosforečnanov, pretože sa uvádza, že fosforečnany uľahčujú degradáciu amifostínu. Pozri napríklad Zadei J. M. a ďalší Pharm. Res. 8(10), S 172 (1991).

Keď je do formulácie podľa tohto vynálezu zabudovaná ktorákoľvek z pomocných látok, táto pomocná látka musí byť pri pridaní sterilná, alebo sterilizovaná v priebehu vlastného procesu sterilizácie amifostínu. Uskutočnenie podľa tohto vynálezu zahŕňa sterilizačný krok. Sterilizáciu možno uskutočniť napríklad sterilizujúcou filtráciou roztoku, napríklad filtrom s veľkosťou pórov 0,2

µm. Odborníkom v danej oblasti sú známe aj ďalšie spôsoby sterilizácie, ktoré možno použiť. Vhodné sterilné a nesterilné pomocné látky sú komerčne dostupné od: EM Industries, Inc., Hawthorne, NY; J. T. Baker, Inc., Hayward, CA; Spectrum Quality Products, Inc., Gardena CA; Fischer Scientific International, Inc., Hampton NH; Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee WI; Abott Laboratories, Inc., North Chicago IL; Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL; a Amresco, Inc., Cleveland, OH; všetko v USA.

Dávkovú formu podľa tohto vynálezu možno pripraviť ako jednodávkovú aseptickým plnením vhodných obalov sterilným roztokom na predpísaný obsah amifostínu, alebo ako viacdávkovú do vhodných obalov na väčší počet dávok. Zámerom je, aby naplnené obaly umožňovali rýchle rozpustenie tuhej zmesi pri rekonštitúcii s príslušným sterilným riedidlom *in situ* a dávali príslušne zriedený roztok s koncentráciou amifostínu, vyžadovanou na podávanie. Použitý výraz "vhodné obaly" znamená obal schopný udržať sterilné prostredie ako je liekovka, schopná uchovať vákuovo sušený produkt hermeticky utesnený pomocou zátky. Vhodné obaly spĺňajú ďalej požiadavku primeranej veľkosti pri uvážení objemu po rekonštitúcii vákuovo sušenej zmesi na roztok a požiadavku primeranosti materiálu obalu, všeobecne sa jedná o sklo 1. hydrolytickej triedy. Výraz uzatváracia zátk, napríklad sterilný gumenný uzáver alebo jeho ekvivalent treba chápať ako taký uzáver, ktorý tesní, ale ktorý súčasne dovoľuje vniknutie za účelom dodania rozpúšťadla, napríklad sterilnej vody pre injekcie (Water for Injection, USP, Normal Saline, USP) alebo 5 % dextrózy vo vode USP na rekonštitúciu vyžadovaného roztoku amifostínu. Uvedené a ďalšie hľadiská vhodnosti obalov na farmaceutické výrobky, ako sú výrobky podľa tohto vynálezu sú dobre známe skúseným vo farmaceutickej praxi.

Sterilné, tepelné stále farmaceutické prostriedky (dávkové formy) podľa tohto vynálezu sú vhodné na parenterálne podávanie, napríklad na intravenózne, intramuskulárne, intrakavitárne, intratekálne a subkutánne injekcie. Uvedené dávkové formy majú zvýšenú tepelnú stálosť v porovnaní s doterajšími dávkovými formami amorfného amifostínu, majú dobré fyzikálne vlastnosti a sú účinné pri prevencii a na liečbu radiačného poškodenia a chemoterapeutického poškodenia organizmu.

Ďalej uvedené Príklady sú určené na bližšie objasnenie vynálezu a nemožno ich v žiadnom prípade považovať za jeho obmedzenie.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Obr. 1 znázorňuje röntgenový difrakčný práškový záznam kryštalického amifostínu, pripraveného podľa opisu v patente USA 5 591 731.

Obr. 2 znázorňuje röntgenový difrakčný práškový záznam amorfnej dávkovej formy podľa tohto vynálezu, v ktorej sa ako stabilizátor použil nikotínamid (amifostín: stabilizátor = 8:1, hmotnostný pomer). Na tomto difrakčnom zázname sú rozlíšiteľné difrakčné píky pri nasledujúcich hodnotách 2Θ : 7,9, 13,0, 16,1, 27,4 a 32,8°.

Obr. 3 znázorňuje röntgenový difrakčný práškový záznam nikotínamidu.

Obr. 4 Porovnanie röntgenových difrakčných práškových záznamov (A) kryštalického amifostínu, pripraveného podľa patentu USA 5 591 731 a (B) amorfnej amifostínovej dávkovej formy podľa tohto vynálezu, obsahujúcej ako stabilizátor nikotínamid (amifostín : stabilizátor = 8:1, hmotnostne).

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Stála amorfná amifostínová dávková forma obsahujúca nikotínamid

Vodný roztok amifostínu ($100 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a nikotínamidu ($12,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) (Aldrich) sa pri $25 \text{ }^\circ\text{C}$ sterilizoval filtráciou filtrom s pórmami o veľkosti $0,2 \text{ }\mu\text{m}$; roztok sa rozdelil na 5 ml alikvotné časti a jednotlivé časti sa preniesli do 10 ml liekoviek. Na liekovky sa vložili lyofilizačné zátky a vzorky sa vložili do priehradky vymrazovacej sušiarne, udržiavanej pri $5 \text{ }^\circ\text{C}$. Teplota v priehradke potom v priebehu 60 minút znížila na $-45 \text{ }^\circ\text{C}$ a táto teplota sa udržiavala ešte 3 hodiny. Nasadil sa vymrazovací kondenzátor a komora sa evakuovala až na približne $13,33 \text{ Pa}$ ($100 \text{ }\mu\text{m Hg}$). Po ustálení vákua sa teplota v zásuvke v priebehu 60 minút plynulo zvýšila na $-25 \text{ }^\circ\text{C}$, vákuum sa pritom udržiavalo na stále rovnakej hodnote. Teplota $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ sa udržiavala ešte približne 48 hodín. Teplota v priehradke vymrazovača sa opäť v priebehu 60 minút

plynulo zvýšila na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a udržiavala ďalších 24 hodín. Nakoniec sa teplota v priehradke vymrazovača v priebehu 60 minút rovnomerne zvýšila na $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a udržiavala sa približne 24 hodín. Potom sa komora naplnila dusíkom až sa dosiahol tlak $86,66\text{ kPa}$ (650 mm Hg) a liekovky sa mechanicky uzatvorili. Týmto spôsobom sa získali tepelne stále, vákuovo sušené jednotlivé dávky v nádobkách, obsahujúcich približne 500 mg amifostínu (vyjadrené ako bezvodá látka) a $62,5\text{ mg}$ nikotínamidového stabilizátora; produkt mal formu kúska príjemného vzhľadu.

Dávková forma, pripravená týmto spôsobom sa podrobila skúškam stálosti; výsledky skúšok sú v ďalej uvedenej Tab. 1.

Príklad 2

Stála amorfná amifostínová dávková forma obsahujúca nikotínamid a PVP

Vodný roztok amifostínu (100 mg.ml^{-1}), nikotínamidu ($12,5\text{ mg.ml}^{-1}$) (Aldrich) a polyvinylpyrolidónu 30 (PVP 30; BASF Aktiengesellschaft, Feinchemie, 0-6700 Ludwigshafen, SRN) sa pri $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ sterilizoval filtráciou filtrom s pórmí o veľkosti $0,2\text{ }\mu\text{m}$; roztok sa rozdelil na 5 ml alikvotné časti a jednotlivé časti sa preniesli do 10 ml liekoviek. Na liekovky sa vložili lyofilizačné zátky a vzorky sa umiestnili do priehradky vymrazovacej sušiarne, udržiavanej pri $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teplota v priehradke vymrazovača sa v priebehu 60 minút znížila na $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ a udržiavala ešte 3 hodiny. Potom sa nasadil vymrazovací kondenzátor a komora sa evakovala až na približne $13,33\text{ Pa}$ ($100\text{ }\mu\text{m Hg}$). Po ustálení vákua sa teplota v priehradke vymrazovača v priebehu 60 minút plynulo zvýšila na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; vákuum sa pritom udržiavalo na stále rovnakej hodnote. Teplota sa udržiavala na $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ešte približne 12 hodín. Teplota v priehradke vymrazovača sa opäť v priebehu 60 minút plynulo zvýšila na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a udržiavala ďalších 12 hodín. Nakoniec sa teplota v zásuvke v priebehu 60 minút rovnomerne zvýšila na $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a udržiavala približne 6 hodín. Potom sa komora naplnila dusíkom až sa dosiahol tlak $86,66\text{ kPa}$ (650 mm Hg) a liekovky sa mechanicky uzatvorili. Týmto spôsobom sa získali tepelne stále, vákuovo sušené jednotlivé dávky v nádobkách, obsahujúcich približne 500 mg amifostínu (vyjadrené ako bezvodá látka), $62,5\text{ mg}$ nikotínamidu a 50 mg PVP 30 vo

forme kúska príjemného vzhľadu. Dávková forma, pripravená týmto spôsobom sa podrobila skúškam stálosti; výsledky skúšok sú v ďalej uvedenej Tab. 4.

Príklad 3

Stanovenie kryštalinity

Kryštalinitu dávkových foriem, pripravovaných podľa tohto vynálezu možno stanovovať práškovou röntgenovou difrakčnou analýzou ako sa opisuje napríklad v Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. vydanie, strana 173; alebo v The United States Pharmacopeia, 23. vydanie, (1995) strany 1843 až 1844.

Na Obr. 2 je znázornený typický röntgenový difrakčný záznam dávkovej formy amorfného amifostínu, pripraveného spôsobom uvedeným v Príklade 1; pri analýze sa použil Geiger-Müllerov snímač a niklovou fóliou filtrované žiarenie $\text{Cu}_{K\alpha}$. Na difrakčnom zázname je široké pozadie, charakteristické pre amorfné materiály. Píky pri $2\theta = 14,8, 25,6$ a $26,3$ patria nikotínamidu a/alebo rozptylu pozadia. Priradenie pík je zrejmé z Obr.3, na ktorom je práškový röntgenový difrakčný záznam kryštalického nikotínamidu.

Z Obr. 4 sú zrejmé rozdiely medzi röntgenovým difrakčným záznamom kryštalického amifostínu, pripraveného podľa opisu v patente USA 5 591 731 a dávkovej formy amorfného amifostínu podľa tohto vynálezu, pričom sa ako stabilizátor použil nikotínamid. (amifostín : nikotínamid = 8:1, hmotnostne).

Príklad 4

Výhodný spôsob skúšky stálosti stálych amorfných amifostínových dávkových foriem

Stálosť sterilných amorfných amifostínových dávkových foriem, pripravených v Príklade 1 sa skúšala pri $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pri $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorky sa uchovávali v uzatvorených, dusíkom plnených 10 ml rúrkových liekovkách.

Výsledky skúšok možno bežnými spôsobmi porovnávať so stálosťou pri iných teplotách. Všeobecnú diskusiu predikcie stálosti pozri napríklad v Lachman L. a ďalší, The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, strany 766 a 767 (1986). Na

základe autormi vynálezu vykonaných skúšok je rozklad dávkovej formy, udržiavanej mesiac pri 25 °C všeobecne rovný jednej polovine rozkladu rovnakej dávkovej formy, udržiavanej dva roky pri 5 °C.

Po uplynutí zvolenej skúšobnej doby sa amorfný amifostín v liekovkách skúšal na obsah vody, obsah tiolu a/alebo obsah amifostínu. V niektorých prípadoch sa obsah vody stanovoval titračným spôsobom podľa Karl Fischera. Pretože amifostín môže tlakom podliehať hydrolyze za vzniku 2-[(3-aminopropyl)amino]-etántiolu ("WR-1065") a kyseliny fosforečnej, stanovenie obsahu uvedeného tiolu poskytuje údaj o stálosti amifostínu. Stanovenie obsahu amifostínu na tento účel nie je výhodné, pretože sa zistilo, že stabilizátory ako je nikotínamid ovplyvňujú analytický postup a výsledky stanovovania obsahu amifostínu vo vzorke. Preto sa stanovenie produktov rozkladu považuje za výhodnejšie, najmä stanovenie WR-1065. Stanovenie obsahu tiolu sa uskutočnilo vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) nasledujúcim postupom:

1. Príprava štandardov a vzoriek

Hmotnosti a objemy možno upraviť tak, aby konečná koncentrácia z rôznych vzoriek ostávala rovnaká. Roztoky sa uchovávali v chladničke a/alebo ihneď po príprave v chladenom automatickom zásobníku vzoriek (refrigerated autosampler). Skladovateľnosť 24 hodín.

1.1 Príprava štandardného roztoku amifostínu

Odváži sa presne približne 30,0 mg amifostínového štandardu do 10 ml odmernej banky. Rozpustí sa v 5 ml vody a doplní po značku metanolom.

1.2 Príprava štandardného roztoku dichloridu 2-[(3-aminopropyl)amino]-etántiolu (WR-1065)

Odváži sa presne približne 7 mg štandardu WR-1065 do 100 ml odmernej banky. Rozpustí sa a doplní po značku mobilnou fázou.

1.3 Príprava roztoku amifostínu (liečiva) na stanovenie obsahu amifostínu

Odváži sa presne približne 30,0 mg amifostínu do 10 ml odmernej banky. Rozpustí sa v 5 ml vody a doplní po značku metanolom.

1.4 Príprava roztoku amifostínu (liečiva) na stanovenie v príbuzných látkach

Odváži sa presne približne 150,0 mg amifostínu do 10 ml odmernej banky. Rozpustí sa a doplní po značku vodou.

1.5 Príprava roztoku amifostínu z injekčného prípravku

Obsah jednej nádoby liečivého produktu sa zriedi 9 ml vody. Roztok sa kvantitatívne prevedie do 50 ml odmernej banky a zriedi po značku vodou. 6 ml tohto roztoku sa prenesie do 25 ml odmernej banky, pridá sa 6,5 ml vody a zriedi po značku metanolom.

2. Vhodnosť systému (s použitím štandardných roztokov)

Amifostín (použitý štandardný roztok z 1.1)

% RSD šiestich opakovaných nástrekov amifostínu	≤ 2 %
koncový faktor (nesymetričnosť píku, tailing factor)	≤ 2
teoretický počet priehradiek	≥ 1 000

WR-1065 (použitý štandardný roztok 1.2)

% RSD z 6 nástrekov	≤ 4
koncový faktor (nesymetričnosť píku)	≤ 2
teoretické počet priehradiek	≥ 7 000

3. Zariadenie a materiály (uvedené, alebo rovnocenné uvedeným)

Zariadenie: systém HPLC s UV detektorom

Materiály: štandardný amifostín; štandardný WR-1065; koncentrovaná kyselina fosforečná (H₃PO₄, v akosti pre HPLC); metanol (MeOH, v akosti pre HPLC);

čistená voda (špecifický odpor 16 MΩ alebo väčší); a sodná soľ 1-oktánsulfónovej kyseliny (OSA, v akosti HPLC).

Podmienky HPLC

Špecifikácia kolóny

plnenie: Beckman Ultrasphere (USP L1)

rozmery: 4,6 x 250 mm

veľkosť častíc: 5 μm

Mobilná fáza: metanol/vodný roztok kyseliny fosforečnej, pH 2,5; 5 mM OSA (50/50); postup

1. rozpust' 0,54 OSA v 500 l vody, uprav kyselinou fosforečnou na pH 2,5;
2. zried' na 1 000 ml metanolom;
3. filtruj a odplyň mobilnú fázu.

Detekcia: absorbanciou pri 220 nm

Prietok: 1,0 ml.min⁻¹

Teplota kolóny: teplota okolia

Teplota vzorky: 4 °C

4. Postup analýzy

Nástrek vzorky a štandardných roztokov, zaznamenanie retenčného času amifostínového píku (približne 4 minúty). Na potvrdenie identifikácie píku amifostínu musí retenčný čas štandardného amifostínového píku a píku pripravenej vzorky súhlasiť v rozmedzí 10 %.

5. Výpočet

Na výpočty stupňa rozkladu vzorky sa použili rovnaké postupy, ako sa opisujú v patente USA 5 591 731, čo sa tu zahŕňa týmto odkazom.

Príklad 5

Výsledky stanovení stálosti amifostínu II

Dávkové formy podľa tohto vynálezu sa hodnotili spôsobom, uvedeným v Príklade 4; typické výsledky hodnotenia sú zhrnuté ďalej. V Tab. 1 sú výsledky skúšok stálosti vzoriek, pripravených spôsobom uvedeným v Príklade 1. Zo zistených údajov je celkom zrejmé, že stálosť dávkových foriem podľa tohto vynálezu je neočakávateľne nezávislá od obsahu vlhkosti.

Tabuľka 1

Teplota ¹ (°C)	Doba skúšky stálosti (dni)	% WR-1065	Obsah vlhkosti (%)
5	20	1,32	0,52
5	20	1,43	0,50
25	20	3,02	0,75
25	20	3,07	0,86
25	97	5,73	nestanovené
25	97	5,94	nestanovené

¹ Teplota bola približná ± 3 °C.

Zistilo sa, že stálosť dávkových foriem podľa tohto vynálezu sa môže meniť zmenou trvania krokov sušenia, opísaných v Príklade 1. Ak sa liekovky, pripravované v Príklade 1 udržiavajú pri -25 °C dvanásť hodín, potom 12 hodín pri -10 °C a nakoniec 6 hodín pri 35 °C, dosiahnu sa výsledky skúšok stálosti, uvedené v Tab. 2.

Tabuľka 2

Teplota ¹ (°C)	Doba skúšky stálosti (dni)	% WR-1065	Obsah vlhkosti (%)
25	27	3,68	nestanovené
40	27	21,51	nestanovené
40	27	14,76	nestanovené
5	56	0,97	nestanovené
5	56	1,03	nestanovené
25	56	5,41	nestanovené

25	56	5,28	nestanovené
5	91	0,96	5,13
5	91	1,12	4,35
25	91	7,03	4,57
25	91	6,73	3,6

¹ Teplota bola približná ± 3 °C.

Uvedené výsledky jasne poukazujú na zvýšenie tepelnej stálosti amifostínových dávkových foriem, vyrobených spôsobom opísaným v tomto vynáleze. Zvýšená stálosť je zrejmá z nízkeho percentuálneho (hmotnostne) obsahu vzniku tiolu, čo poukazuje na veľmi nízky stupeň rozkladu amifostínu za vzniku 2- [(3-aminopropyl)amino]etántiolu (WR-1056).

Výnimočná a neočakávateľná tepelná stálosť dávkových foriem podľa tohto vynálezu je zreteľná aj z Tab. 3, v ktorej sú výsledky meraní bežných dávkových foriem amifostínu (amorfného amifostínu I), dávkových foriem amifostínu podľa tohto vynálezu (amorfný amifostín II) a kryštalickej dávkovej formy podľa patentu USA 5 424 471 ("kryštalický Ethyol[®]"). Je zrejmé, že dávková forma podľa tohto vynálezu má takú stálosť, akú bolo možné doteraz dosahovať iba kryštalickými dávkovými formami.

Tabuľka 3

Dávková forma	% vody	1 mesiac		3 mesiace	1 rok
		40 °C ^{xx}	25 °C ^{xx}	25 °C ^{xx}	5 °C ^{xx}
Amorfný amifostín I ^a	≈6 %	n	6,0	13,8	3,5
Amorfný amifostín II ^b	≈1 %	18,1	3,0 ^f	5,8	n
Amorfný amifostín II ^c	≈5 %	n	3,7	6,9	n
Amorfný amifostín ^d	≈6 %	n	5,0	n	n
Amorfný amifostín II ^c	≈6 %	n	3,3	n	n
Kryštalický Ethyol [®]	≈20 %	0,6	n	0,4	0,5

^a obsahujúci manitol ako pomocnú látku v pomere 1:1

^b obsahujúci nikotínamid ako stabilizátor v pomere amifostín : nikotínamid = 8:1

^c obsahujúci nikotínamid ako stabilizátor v pomere amifostín : nikotínamid = 8:1

^d obsahujúci nikotínamid ako stabilizátor v pomere amifostín : nikotínamid = 8:1

^e dávková forma pripravená spôsobom podľa tohto vynálezu, obsahujúca nikotínamid ako stabilizátor v pomere amifostín:nikotínamid 4:1 (zmes kryštalického a amorfného)

^f skúška trvala 20 dní

^{xx} Teplota bola približná, ± 3 °C

n = nestanovené.

Z Tab. 3 ďalej možno vidieť, že tepelnú stálosť môžu ovplyvňovať zmeny cyklu sušenia. Napríklad amorfný amifostín I bol pripravený hore uvedeným postupom, ale uskutočnenia amorfného amifostínu II sa pripravili s použitím rôznych cyklov sušenia. S použitím horných indexov z Tab. 3: amorfný amifostín II^p bol pripravený s cyklom sušenia, uvedenom v Príklade 1; amorfný amifostín II^c bol pripravený s použitím cyklu sušenia opísaného v súvislosti s výsledkami v Tab. 2. Amorfný amifostín II^d a amorfný amifostín II^e sa pripravili s nasledujúcim cyklom sušenia: zmrazovanie 3 hodiny pri približne -45 °C; primárne sušenie približne 60 hodín pri teplote približne -25 °C; druhé sušenie približne 24 hodín pri -10 °C a potom približne 6 hodín pri 0 °C.

Výnimočnú stálosť majú tiež dávkové formy, obsahujúce amifostín, nikotínamid a pomocnú látku. Napríklad dávkové formy, pripravené spôsobom uvedeným v Príklade 2, kde pomocná látka bola PVP 30, majú stálosti uvedené v Tab.4.

Tabuľka 4

Teplota ¹ (°C)	Doba skúšky stálosti (dni)	% WR-1065	Obsah vlhkosti (%)
5	45	0,66	5,15
25	45	1,96	n
5	110	0,84	n
25	110	2,40	n

¹ Teplota bola približná, ± 3 °C.

Amifostínové farmaceutické prostriedky podľa tohto vynálezu, ktoré obsahujú iba amifostín a pomocnú látku majú stálosť, vyjadrenú údajmi v Tab. 5. Uvádzané prostriedky sa pripravili lyofilizačným cyklom, ktorý sa opisuje v Príklade 2.

Tabuľka 5

Pomocná látka	Teplota ^{xx} (°C)	Doba skúšky stálosti (dni)	% WR- 1065	Obsah vlhkosti (%)
PVP 30 ^a	5	45	1,26	3,26
sacharóza ^b	5	45	0,78	4,95
CMC ^c	5	45	0,93	3,84
dextrán ^d	5	45	1,01	3,87
PVP 30 ^a	25	45	4,80	n
sacharóza ^b	25	45	4,29	n
CMC ^c	25	45	4,21	n
dextrán ^d	25	45	5,10	n
PVP 30 ^a	5	110	1,57	n
sacharóza ^b	5	110	1,55	n
CMC ^c	5	110	1,26	n
dextrán ^d	5	110	1,37	n

^{xx} Teplota bola približná, ± 3 °C.

^a obsahuje PVP30 v pomere amifostín : PVP 30 = 10:1

^b obsahuje sacharózu v pomere amifostín : sacharóza = 10:1

^c obsahuje nízkoviskóznú sodnú soľ karboxymetylcelulózy
v pomere amifostín : CMC = 40:1

^d obsahuje dextrán v pomere amifostín : dextrán = 10:1

n = nestanovené

Z uvedených výsledkov je zrejmé, že amorfný amifostín podľa tohto vynálezu možno kombinovať s mnohými farmaceutickými pomocnými látkami ak kombinácia

pomocnej látky s amorfným amifostínom poskytuje tepelne stále farmaceutické prostriedky.

Odborníkom skúseným v danej oblasti je zrejmé, že sú okrem jednotlivo opísaných uskutočnení možné aj ďalšie uskutočnenia; také uskutočnenia sú tiež zahrnuté v rozsahu a sú v duchu tohto vynálezu. Preto uvedený opis nemožno v žiadnom prípade chápať ako iné obmedzenia vynálezu, než aké sú stanovené nasledujúcimi patentovými nárokmi.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Dávková forma amifostínu, ktorá obsahuje tepelne stály, sterilný, amorfný amifostín, vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný bezčasticový liečivý prostriedok na parenterálne podávanie subjektu.

2. Dávková forma amifostínu, vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný bezčasticový liečivý prostriedok na parenterálne podávanie subjektu, ktorá obsahuje tepelne stály, sterilný, amorfný amifostín.

3. Tepelne stála, amorfná, sterilná dávková forma obsahujúca amifostín.

4. Tepelne stála amorfná dávková forma obsahujúca sterilný amifostín, vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný bezčasticový liečivý prostriedok na parenterálne podávanie subjektu.

5. Dávková forma podľa nároku 1, ktorá ďalej obsahuje stabilizátor.

6. Dávková forma podľa nároku 5, pričom uvedený stabilizátor je v podstate amorfný.

7. Amorfná dávková forma podľa nároku 5, pričom stabilizátor je amid alebo aminokyselina.

8. Dávková forma podľa nároku 7, pričom sa amid alebo aminokyselina vyberie zo skupiny, ktorá zahŕňa nikotínamid, deriváty nikotínamidu, kyselinu nikotínovú, deriváty kyseliny nikotínovej, glycín, alanín, valín, leucín, izoleucín, fenylnalanín, tryptofán, asparagín a ich zmesi.

9. Dávková forma podľa nároku 5, pričom molový pomer stabilizátora k amifostínu je medzi približne 0,05 a 5,0.

10. Dávková forma podľa nároku 9, pričom molový pomer stabilizátora k amifostínu je medzi približne 0,1 a 1,0.

11. Dávková forma podľa nároku 10, pričom molový pomer stabilizátora k amifostínu je medzi približne 0,2 a 0,5.

12. Dávková forma podľa nárokov 1 až 5, ktorá ďalej obsahuje farmaceutickú pomocnú látku.

13. Dávková forma podľa nároku 12, pričom farmaceutická pomocná látka sa vyberie zo skupiny, ktorá zahŕňa chlorid sodný, kyselinu citrónovú, kyselinu vínnu, želatínu, polyvinylpyrolidón, kyselinu dietyléntriámín-pentaoctovú, kyselinu etyléndiamíntetraoctovú, deoxycholát sodný, taurocholát sodný, dextrózu, sacharózu, sorbitol, inozitol, dextrán, manitol a sodnú soľ karboxymetylcelulózy a ich zmesi.

14. Dávková forma podľa nároku 1, 5 alebo 12, pričom dávková forma má obsah vody medzi približne 0 % hmotnostnými a 20 % hmotnostnými.

15. Dávková forma podľa nároku 4, pričom dávková forma má obsah vody medzi približne 0 % hmotnostnými a 15 % hmotnostnými.

16. Dávková forma podľa nároku 15, pričom dávková forma má obsah vody medzi približne 0,5 % hmotnostnými a 6 % hmotnostnými.

17. Dávková forma podľa nároku 1, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 5 % hmotnostných 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

18. Dávková forma podľa nároku 17, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 4 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej

liekovke, udržiavanej týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

19. Dávková forma podľa nároku 18, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 3 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej týždeň pri 40 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

20. Dávková forma podľa nároku 1, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 5 % hmotnostných 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej mesiac pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

21. Dávková forma podľa nároku 20, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 4 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej mesiac pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

22. Dávková forma podľa nároku 21, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 3 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej mesiac pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

23. Dávková forma podľa nároku 22, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 2 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej mesiac pri 25 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

24. Dávková forma podľa nároku 1, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 3 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke,

udržiavanej približne dva roky pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

25. Dávková forma podľa nároku 24, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 2 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej približne dva roky pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

26. Dávková forma podľa nároku 25, pričom dávková forma vytvára menej ako približne 1 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke udržiavanej približne dva roky pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

27. Dávková forma amifostínu stála pri teplote miestnosti, ktorá obsahuje sterilný, amorfný amifostín, vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný bezčasticový farmaceutický prostriedok na parenterálne podávanie subjektu.

28. Amorfná dávková forma stála pri teplote miestnosti, ktorá obsahuje sterilný, amorfný amifostín, vhodná na rekonštitúciu s farmaceuticky prípustným nosičom na injektovateľný bezčasticový farmaceutický prostriedok na parenterálne podávanie subjektu.

29. Zmrazená stála dávková forma, obsahujúca sterilný amorfný amifostín, pričom uvedená dávková forma vytvára menej ako približne 3 % hmotnostné 2-[(3-aminopropyl)amino]etántiolu v uzavretej liekovke, udržiavanej približne dva roky pri 5 °C; uvedené hmotnostné percentá sa vzťahujú na celkovú hmotnosť amifostínu.

30. Dávková forma amifostínu, obsahujúca v podstate tepelne stály, sterilný amorfný amifostín.

31. Dávková forma amifostínu, obsahujúca tepelne stály, sterilný amorfný amifostín.

32. Tepelne stála dávková forma, obsahujúca sterilný amorfný amifostín a nikotínamid v hmotnostnom pomere aminofostínu k nikotínamidu medzi 4:1 a 10:1.

33. Dávková forma podľa nároku 32, pričom hmotnostný pomer amifostínu k nikotínamidu je približne 8:1.

34. Dávková forma podľa nároku 27 alebo 29, ktorá obsahuje stabilizátor.

35. Dávková forma podľa nároku 27 alebo 29, ktorá obsahuje farmaceutickú pomocnú látku.

36. Dávková forma podľa nárokov 27 alebo 29, pričom dávková forma má obsah vody medzi približne 0 % hmotnostnými a približne 20 % hmotnostnými.

37. Dávková forma podľa nároku 1, 2, 3, 27, 28 alebo 29, pričom dávková forma je v podstate amorfná.

38. Dávková forma podľa nároku 1, 2, 3, 27, 28 alebo 29, pričom dávková forma je najmenej z 80 % hmotnostných amorfná.

39. Dávková forma podľa nároku 1, 2, 3, 27, 28 alebo 29, pričom dávková forma je najmenej z 90 % hmotnostných amorfná.

40. Spôsob prípravy tepelne stálej dávkovej formy amorfného amifostínu, v y-
z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa lyofilizáciu sterilného vodného roztoku
amifostínu, pričom lyofilizácia zahŕňa:

- zmrazovací cyklus, v ktorom je (prvá) priemerná teplota medzi približne -70 °C a
približne -10 °C a ktorý trvá (prvá etapa) medzi približne hodinou a 15 hodinami; a

- prvý cyklus sušenia, v ktorom je (druhá) priemerná teplota medzi približne -45 °C a približne 10 °C a ktorý trvá (druhá etapa) medzi približne 8 hodinami a približne 100 hodinami.

41. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že vodný roztok v podstate neobsahuje alkohol.

42. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že vodný roztok má pH medzi približne 6 a 9.

43. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa rozpustenie stabilizátora vo vodnom roztoku pred lyofilizáciou.

44. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa rozpustenie farmaceutickej pomocnej látky vo vodnom roztoku pred lyofilizáciou.

45. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa zmiešanie produktu vytvoreného lyofilizáciou so stabilizátorom.

46. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa zmiešanie produktu vytvoreného lyofilizáciou s farmaceutickou pomocnou látkou.

47. Spôsob podľa nároku 43 alebo 45, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že stabilizátorom je amid, aminokyselina alebo farmaceuticky prípustná zásada.

48. Spôsob podľa nároku 47, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že amid alebo aminokyselina sa vyberie zo skupiny, ktorá zahŕňa nikotínamid, deriváty nikotínamidu, kyselínu nikotínovú, deriváty kyseliny nikotínovej, glycín, alanín, valín, leucín, izoleucín, fenylalanín, tryptofán, asparagín a ich zmesi.

49. Spôsob podľa nároku 47, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že molový pomer stabilizátora ku kompaktnému amifostínu je medzi približne 0,05 a približne 5,0.

50. Spôsob podľa nároku 49, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že molový pomer stabilizátora ku kompaktnému amifostínu je medzi približne 0,1 a približne 1,0.

51. Spôsob podľa nároku 50, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že molový pomer stabilizátora ku kompaktnému amifostínu je medzi približne 0,2 a približne 0,5.

52. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že prvá priemerná teplota je medzi približne $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

53. Spôsob podľa nároku 52, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že prvá priemerná teplota je medzi približne $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

54. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že prvá etapa trvá medzi približne 2 hodinami a 10 hodinami.

55. Spôsob podľa nároku 54, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že prvá etapa trvá medzi približne 5 hodinami a 8 hodinami.

56. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že druhá priemerná teplota je medzi približne $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

57. Spôsob podľa nároku 56, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že druhá priemerná teplota je medzi približne $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

58. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že druhá etapa trvá medzi približne 16 hodinami a približne 86 hodinami.

59. Spôsob podľa nároku 58, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že druhá etapa trvá medzi približne 24 hodinami a približne 72 hodinami.

60. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že lyofilizácia roztoku ďalej zahŕňa druhý cyklus sušenia s (tretou) priemernou teplotou medzi približne $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ktorý trvá (tretia etapa) priemerne medzi približne 0,5 hodiny a približne 48 hodín.

61. Spôsob podľa nároku 60, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tretia priemerná teplota je medzi $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

62. Spôsob podľa nároku 61, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tretia priemerná teplota je medzi približne $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a približne $35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

63. Spôsob podľa nároku 60, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tretia etapa trvá medzi približne 2 hodinami a približne 36 hodinami.

64. Spôsob podľa nároku 63, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že tretia etapa trvá medzi približne 6 hodinami a približne 24 hodinami.

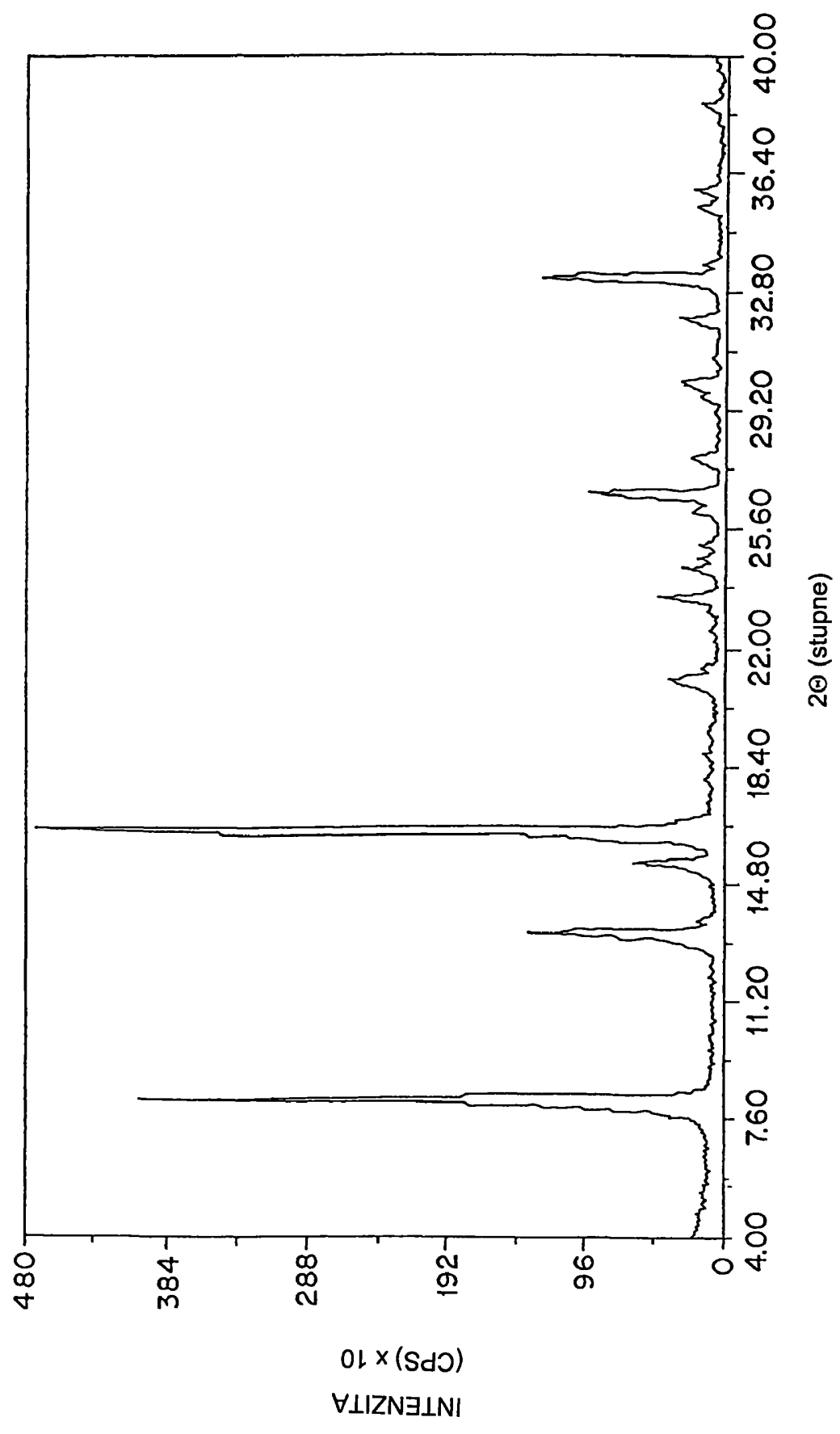
65. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že po lyofilizácii roztoku ďalej zahŕňa uzatvorenie liekoviek vysušovacími zátkami.

66. Spôsob podľa nároku 40, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa vodný roztok lyofilizuje v takých podmienkach, aby dávková forma amifostínu mala obsah vody medzi približne 0 % hmotnostnými a približne 20 % hmotnostnými.

67. Spôsob podľa nároku 66, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa vodný roztok lyofilizuje v takých podmienkach, aby dávková forma amifostínu mala obsah vody medzi približne 0 % hmotnostnými a približne 15 % hmotnostnými.

68. Spôsob podľa nároku 67, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa vodný roztok lyofilizuje v takých podmienkach, aby dávková forma amifostínu mala obsah vody medzi približne 0,5 % hmotnostnými a približne 6 % hmotnostnými.

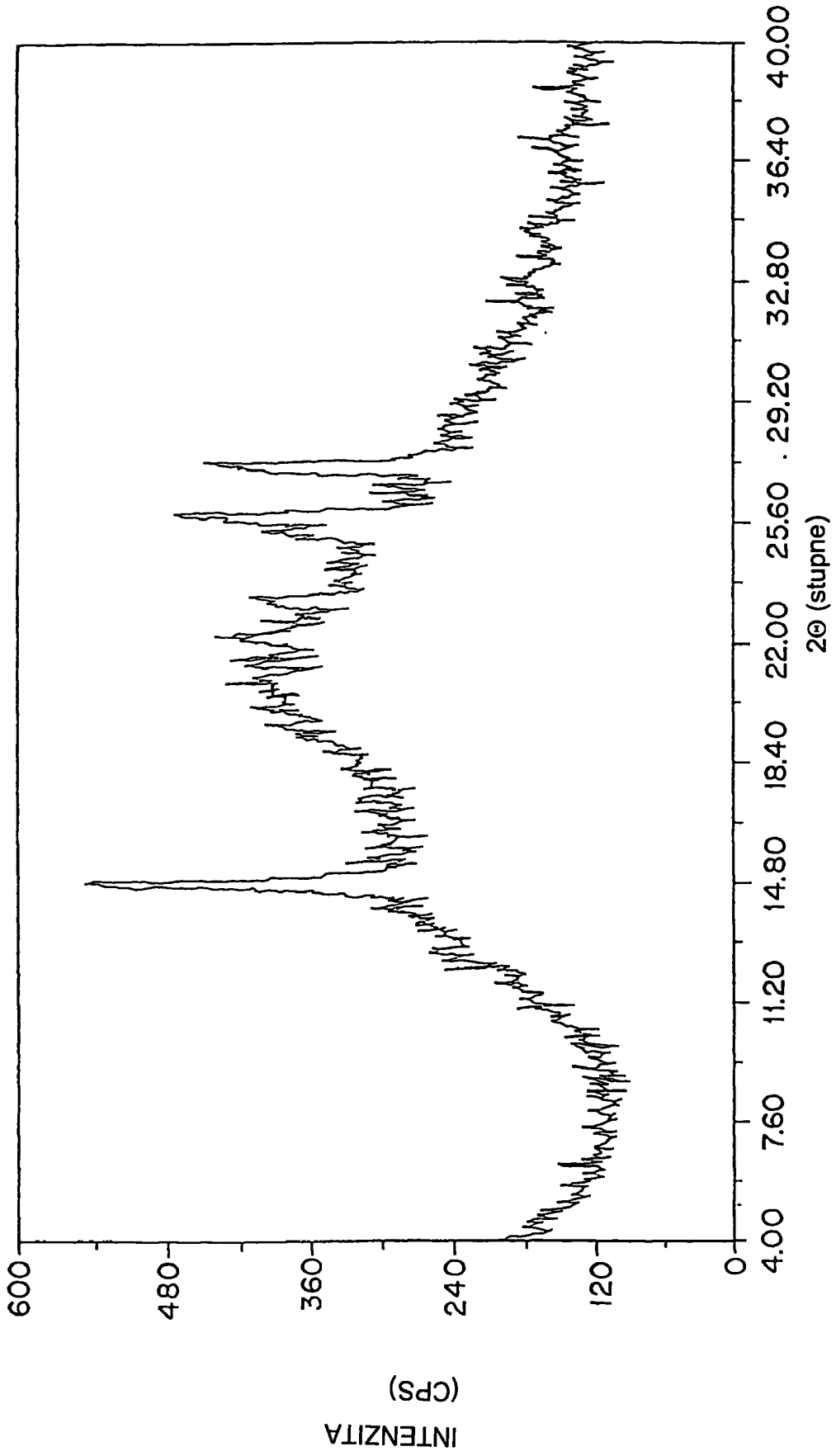
69. Tepelne stála dávková forma amorfného amifostínu pripraviteľná spôsobom podľa nároku 40.



.OBR.1

150701

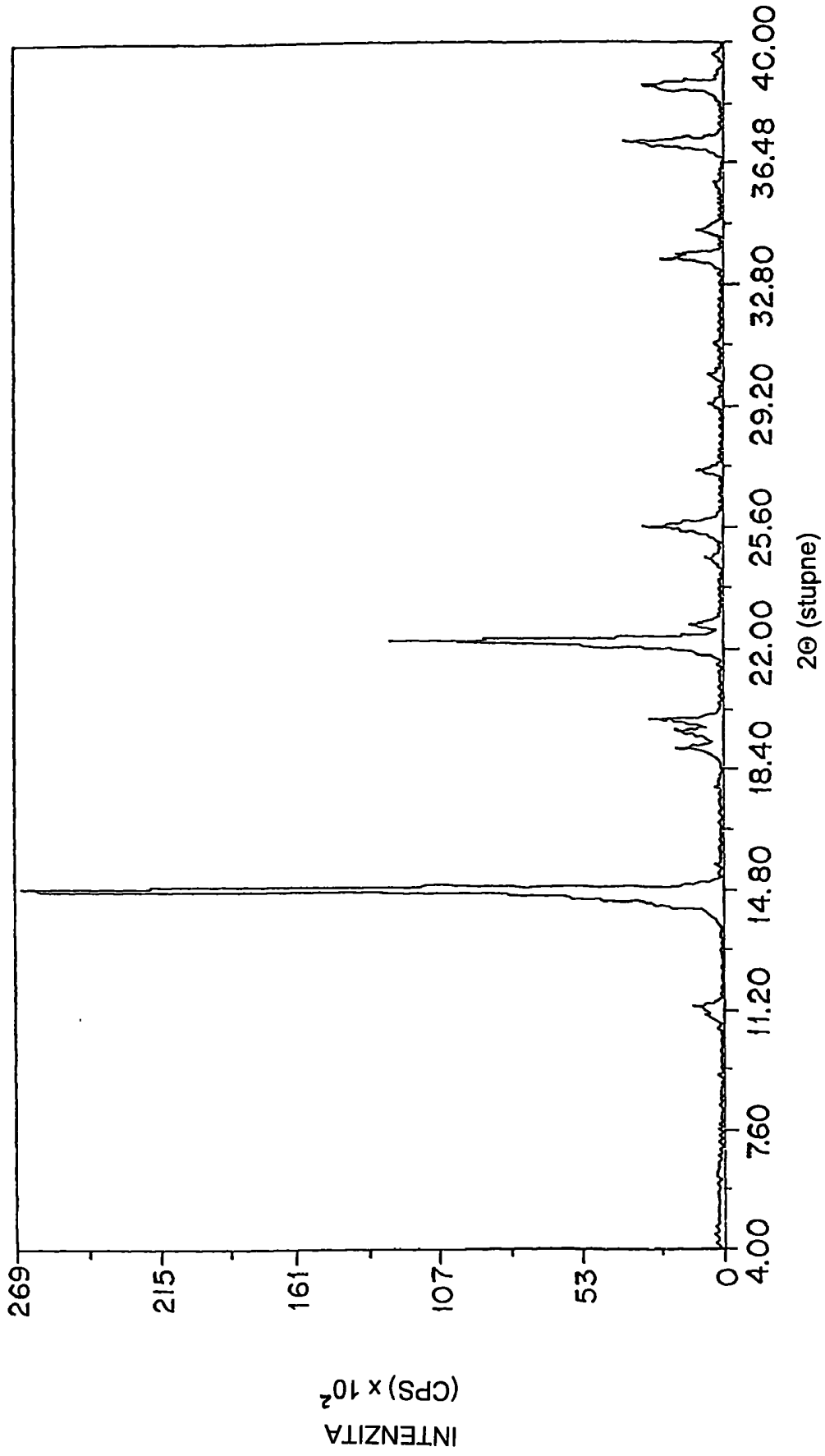
2 / 4



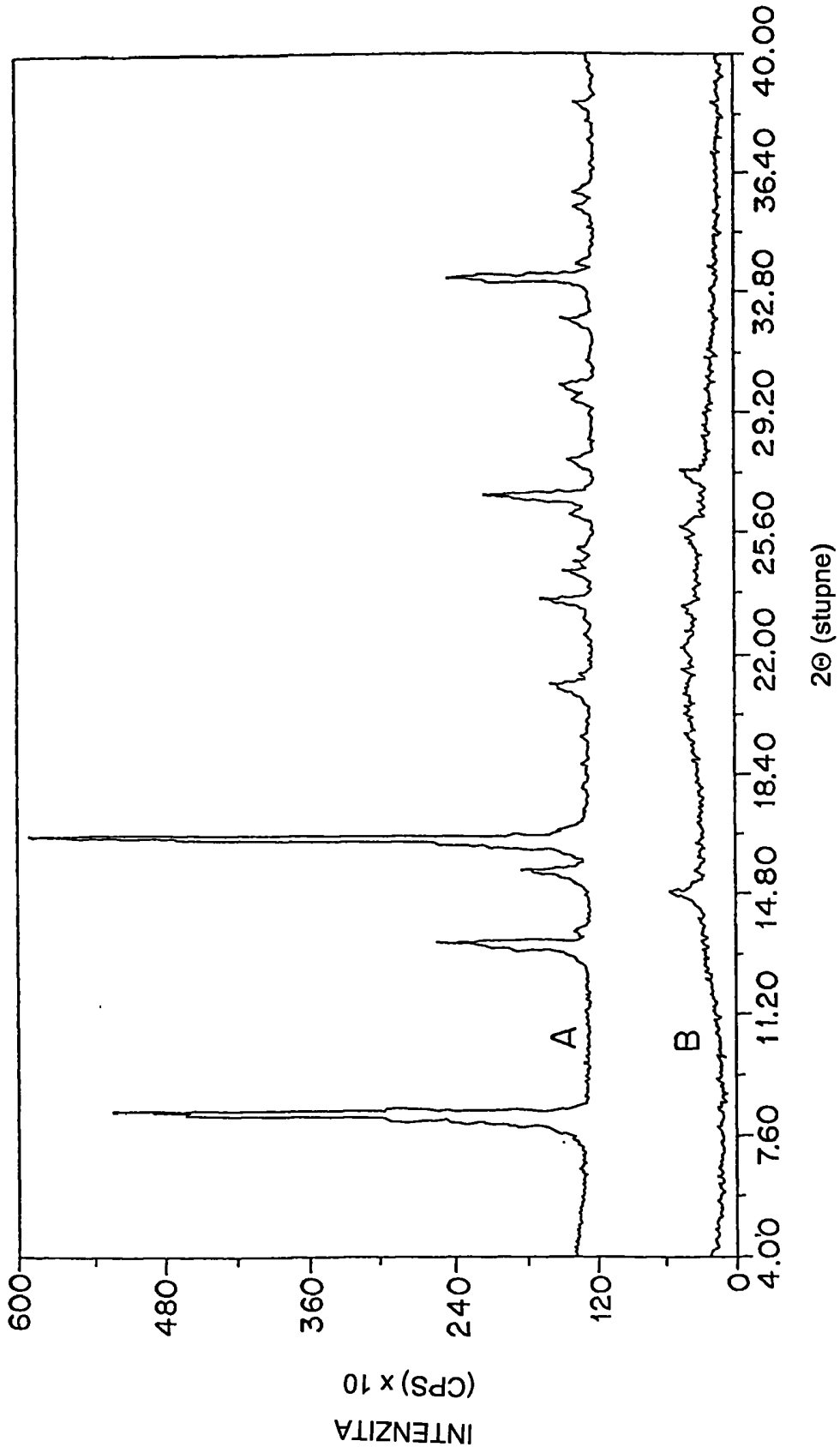
OBR. 2

0001

3 / 4



OBR. 3



OBR. 4