

①⑨



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

①① CH 667 594 A5

⑤① Int. Cl.⁴: A 61 K 31/71**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

①② PATENTSCHRIFT A5

②① Gesuchsnummer: 4476/85

②② Anmeldungsdatum: 17.10.1985

③③ Priorität(en): 22.10.1984 GB 8426672

②④ Patent erteilt: 31.10.1988

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 31.10.1988⑦③ Inhaber:
Farmitalia Carlo Erba S.r.l., Milano (IT)⑦② Erfinder:
Gatti, Gaetano, Sesto San Giovanni/Milano (IT)
Oldani, Diego, Robecco sul Naviglio/Milano (IT)
Confalonieri, Carlo, Cusano Milanino/Milano (IT)
Gambini, Luciano, Cornaredo/Milano (IT)⑦④ Vertreter:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

⑤④ Anthracyclinglycoside enthaltende pharmazeutische Präparate.

⑤⑦ Beständige, schnell lösliche, lyophilisierte Präparate
enthalten ein Anthracyclinglycosid oder ein pharma-
zeutisch unbedenkliches Salz davon als Wirkstoffsubstanz
und ein Cosolubilisierungsmittel des in Anspruch 1 ange-
gebenen Typs. Diese Präparate können für die Behandlung
von Tumoren verwendet werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Beständiges, schnell lösliches, lyophilisiertes Präparat, dadurch gekennzeichnet, dass es ein Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon sowie ein Cosolubilisierungsmittel enthält, wobei das Cosolubilisierungsmittel eine hydroxyl-, mercapto- oder amino-substituierte Benzoesäure oder ein Alkalimetallsalz davon oder ein Alkylester mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest davon oder ein ringhalogeniertes methylsubstituiertes Phenol oder eine Aminosäure oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen ist, mit Ausnahme von Präparaten, in denen das Anthracyclinglycosid Doxorubicinhydrochlorid ist und das Cosolubilisierungsmittel gleichzeitig eine Kombination von 4 Teilen p-Hydroxy-benzoesäuremethylester und 1 Teil p-Hydroxy-benzoesäurepropylester ist.

2. Lyophilisiertes Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Anthracyclinglycosid aus Doxorubicin, 4'-Epi-doxorubicin, 4'-Desoxydoxorubicin, Daunorubicin und 4-Desmethoxy-daunorubicin gewählt ist.

3. Lyophilisiertes Präparat nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Salz des Anthracyclinglycosides das Hydrochlorid ist.

4. Lyophilisiertes Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Cosolubilisierungsmittel entweder eine Verbindung, die aus p-Hydroxy-benzoesäure und deren Methylester, p-Amino-benzoesäure und deren Methylester, o-Hydroxy-benzoesäure und deren Methylester, 3-Methyl-4-chlorphenol und 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol gewählt ist, oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen ist.

5. Lyophilisiertes Präparat nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Cosolubilisierungsmittel p-Hydroxy-benzoesäuremethylester ist.

6. Lyophilisiertes Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass es ein inertes Excipients enthält.

7. Lyophilisiertes Präparat nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das inerte Excipients Lactose ist.

8. Lyophilisiertes Präparat nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass es Doxorubicin-hydrochlorid, p-Hydroxy-benzoesäuremethylester und Lactose enthält.

9. Verfahren zur Herstellung einer injizierbaren sterilen ein Anthracyclinglycosid enthaltenden Lösung, dadurch gekennzeichnet, dass man ein lyophilisiertes Präparat, das das Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon sowie ein Cosolubilisierungsmittel enthält, wobei das Cosolubilisierungsmittel eine hydroxyl-, mercapto- oder amino-substituierte Benzoesäure oder ein Alkalimetallsalz davon oder ein Alkylester mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest davon oder ein ringhalogeniertes methylsubstituiertes Phenol oder eine Aminosäure oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen ist, in einer für die Injektion geeigneten Lösung auflöst.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass man als für die Injektion geeignete Lösung physiologische Kochsalzlösung verwendet.

11. Sterile injizierbare Lösung, erhalten nach dem Verfahren gemäss Anspruch 9.

12. Verwendung eines lyophilisierten Präparates, welches ein Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon und ein Cosolubilisierungsmittel enthält, wobei das Cosolubilisierungsmittel eine hydroxyl-, mercapto- oder amino-substituierte Benzoesäure oder ein Alkalimetallsalz davon oder ein Alkylester davon mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest oder ein ringhalogeniertes methylsubstituiertes Phenol oder eine Aminosäure oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen

gen ist, zur Herstellung einer injizierbaren Lösung besagten Anthracyclinglycosids, welche bei der Behandlung von Tumoren bei einem menschlichen oder tierischen Tumorträger wirksam ist.

13. Verwendung nach Anspruch 12 zur Herstellung einer injizierbaren Lösung in physiologischer Kochsalzlösung.

BESCHREIBUNG

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf beständige, schnell lösliche, lyophilisierte Präparate, die ein Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon als Wirkstoff enthalten. Die genannten Präparate können zur Behandlung von Tumoren verwendet werden.

Die erfindungsgemässen lyophilisierten Präparate sind dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich zu der Wirkstoffsubstanz ein Cosolubilisierungsmittel enthalten, das die Löslichkeit des lyophilisierten Kuchens zu verbessern vermag, wenn dieser rekonstituiert ist, insbesondere dann, wenn die Rekonstituierung mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgt.

Es ist allgemein bekannt, dass die Rekonstituierung mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gegenüber der Rekonstituierung mit sterilem Wasser zu bevorzugen ist, um isotonische rekonstituierte injizierbare Lösungen zu erhalten, das heisst, Lösungen mit einer Tonizität, die mit derjenigen des Blutes verträglicher ist.

Es ist auch bekannt, dass manchmal bei der Rekonstituierung, insbesondere mit physiologischer Kochsalzlösung, bestimmter Anthracyclinglycosid enthaltender gefriergetrockneter Präparate Löslichkeitsprobleme auftreten, weil der lyophilisierte Kuchen sich etwas langsam auflöst und für die vollständige Auflösung ein längeres Schütteln erforderlich sein kann.

Das Problem ist von besonderer Relevanz im Hinblick auf die anerkannte Toxizität von Wirkstoffen der Anthracyclinglycosidfamilie. Es wurde nun gefunden, dass das Vorhandensein eines geeigneten Cosolubilisierungsmittels in einem lyophilisierten Anthracyclinglycosid enthaltenden Präparat die Löslichkeit des Wirkstoffes in hohem Grade verbessert, so dass bei der Rekonstituierung, z. B. mit physiologischer Kochsalzlösung, aber auch mit sterilem Wasser, eine vollständige Auflösung ohne irgendwelche Schwierigkeit in wenigen Sekunden erzielt wird.

Die Anthracyclinglycosid-Wirkstoffsubstanz in den erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparaten kann ein beliebiges Anthracyclinglycosid sein, z. B. eines derjenigen, die in den GB-PS Nr. 1 161 278, 1 217 133, 1 457 632, 1 467 383, 1 500 421 und 1 511 559 offenbart sind. Insbesondere ist das genannte Anthracyclinglycosid z. B. Doxorubicin, 4'-Epi-doxorubicin (das heisst Epirubicin), 4'-Desoxydoxorubicin (das heisst Esorubicin), Daunorubicin und 4-Desmethoxy-daunorubicin (das heisst Idarubicin).

Das Cosolubilisierungsmittel, das in den erfindungsgemässen Präparaten als Löslichkeitsverbesserer verwendet wird, ist eine Verbindung, die aus Hydroxy-, Mercapto- und Amino-benzoesäuren, z. B. p-Hydroxy- oder o-Hydroxy- oder p-Amino-benzoesäure, deren Alkalimetallsalzen, z. B. ein Natrium- oder Kaliumsalz, deren Alkylestern mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest, z. B. einem Methyl-, Ethyl-, Propyl- oder Butylester, ringhalogenierten methylsubstituierten Phenolen, z. B. 3-Methyl-4-chlorphenol oder 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol, Aminosäuren, insbesondere neutralen Aminosäuren, z. B. einer neutralen aliphatischen Aminosäure, wie beispielsweise Glycin, Alanin, Leucin und dergleichen, einer neutralen thioaliphatischen Aminosäure,

wie beispielsweise Cystein oder Methionin, einer neutralen aromatischen Aminosäure, wie beispielsweise Phenylalanin oder Tyrosin, oder einer neutralen heterocyclischen Aminosäure, wie z.B. Prolin oder Hydroxyprolin, gewählt ist, oder eine Kombination von zwei oder mehr der oben genannten Verbindungen.

Es ist bekannt, dass einige der obigen Cosolubilisierungsmittel als Konservierungsmittel/Bakteriostatika in pharmazeutischen Formulierungen verwendet werden, aber über ihre mögliche Rolle als Löslichkeitsverbesserer bei der Rekonstituierung von lyophilisierten Präparaten, z.B. Anthracyclinglycosid enthaltenden Präparaten, ist nichts bekannt. Z.B. berichten K.P. Flora et al (J. Pharm. Pharmacol. 1980, 32, 577) über die Gefriertrocknung von Doxorubicin-hydrochlorid-Formulierungen, die 4 Teile p-Hydroxy-benzoesäuremethylester und 1 Teil p-Hydroxy-benzoesäurepropylester als Konservierungsmittel enthalten, aber dort wird kein einziger Hinweis auf eine mögliche Rolle der genannten Konservierungsmittel bei der Verbesserung der Löslichkeit des gefriergetrockneten Präparates gegeben. Ferner enthält der Artikel von Flora et al keinerlei Anzeichen dafür, dass die für den Gefriertrocknungsprozess verwendeten Lösungen für die Injektion geeignet sein könnten. Bekanntlich müssen Lösungen für die Injektion steril sein; insbesondere werden wässrige Lösungen aus einem lyophilisierten Präparat durch Auflösen desselben in sterilem, pyrogenfreiem Wasser für Injektionszwecke erhalten, während dies sich im Falle der Lösungen von Flora nicht ergibt.

Demgemäß bezieht sich die Erfindung auf ein beständiges, schnell lösliches, lyophilisiertes Präparat, das ein Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon sowie ein Cosolubilisierungsmittel enthält, wobei das Cosolubilisierungsmittel eine hydroxyl-, mercapto- oder amino-substituierte Benzoessäure oder ein Alkalimetallsalz davon oder ein Alkylester mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest davon oder ein ringhalogeniertes methylsubstituiertes Phenol oder eine Aminosäure oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen ist, mit Ausnahme von Präparaten, worin das Anthracyclinglycosid Doxorubicin-hydrochlorid ist und das Cosolubilisierungsmittel gleichzeitig eine Kombination von 4 Teilen p-Hydroxy-benzoesäuremethylester und 1 Teil p-Hydroxybenzoessäurepropylester ist.

In den erfindungsgemässen Präparaten können das Anthracyclinglycosid und das Cosolubilisierungsmittel beliebige der vorstehend angegebenen sein. Ein bevorzugtes Anthracyclinglycosid ist insbesondere Doxorubicin, 4'-Epidoxorubicin, 4'-Desoxy-doxorubicin, Daunorubicin oder 4-Desmethoxy-daunorubicin oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon.

Das bevorzugte Cosolubilisierungsmittel ist entweder eine Verbindung, die aus p-Hydroxy-benzoesäure und deren Methylester, p-Amino-benzoesäure und deren Methylester, o-Hydroxy-benzoesäure und deren Methylester, 3-Methyl-4-chlorphenol und 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol gewählt ist, oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindungen. Ein besonders bevorzugtes Cosolubilisierungsmittel ist p-Hydroxy-benzoesäuremethylester.

In den erfindungsgemässen Präparaten kann das pharmazeutisch unbedenkliche Salz des Anthracyclinglycosides entweder ein Salz mit einer anorganischen Säure, wie z.B. Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure oder Phosphorsäure, oder ein Salz mit einer organischen Säure, wie beispielsweise Essigsäure, Benzoessäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Oxalsäure, Glyoxylsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure oder Benzolsulfonsäure, sein. Ein besonders bevorzugtes Salz ist das Salz mit Salzsäure.

Die Ausdrücke «pharmazeutisch» und dergleichen sollen sich auf Anwendungen sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin beziehen. Die Ausdrücke «lyophilisiert» und «gefriergetrocknet» werden unterschiedslos verwendet.

Obgleich die Hauptkomponenten der erfindungsgemässen lyophilisierten Formulierungen die Anthracyclinglycosid-Wirkstoffsubstanz und das oben beschriebene Cosolubilisierungsmittel sind, ist als weitere Komponente gewöhnlich ein inertes Excipiens vorhanden, und dieses ist z.B. Lactose, Mannit, Sorbit oder Maltose, vorzugsweise Lactose, in einer geeigneten Menge.

Gemäss einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird ein beständiges, schnell lösliches, lyophilisiertes Präparat zur Verfügung gestellt, das Doxorubicin-hydrochlorid als Wirkstoffsubstanz, p-Hydroxy-benzoesäuremethylester als Cosolubilisierungsmittel und Lactose als inertes Excipiens enthält.

Die relativen Mengenverhältnisse der Wirkstoffsubstanz und des Cosolubilisierungsmittels in den erfindungsgemässen Präparaten sind derart, dass auf 10 Gew.-Teile Wirkstoffsubstanz ca. 0,1 bis 10 Gew.-Teile, vorzugsweise 0,5 bis 2 Gew.-Teile, des Cosolubilisierungsmittels vorhanden sein können; ein besonders bevorzugtes Gewichtsverhältnis zwischen dem Cosolubilisierungsmittel und der Wirkstoffsubstanz ist 1 : 10. Die erfindungsgemässen lyophilisierten Formulierungen können die Wirkstoffsubstanz in verschiedenen Mengen enthalten; typische Formulierungen enthalten z.B. 5, 10, 20, 25 oder 50 mg Anthracyclinglycosid.

Wie bereits erwähnt, verbessert das Vorhandensein des Cosolubilisierungsmittels in den erfindungsgemässen lyophilisierten Präparaten die Löslichkeit des Wirkstoffes in hohem Grade, so dass die Auflösungszeiten bei der Rekonstitution, z.B. mit physiologischer Kochsalzlösung, stark verringert werden, sogar von ca. 2 Minuten (für die Rekonstitution von lyophilisierten Formulierungen, die keinen Löslichkeitsverbesserer enthalten) auf 10 bis 30 Sekunden oder weniger.

Die erfindungsgemässen lyophilisierten Formulierungen können in herkömmlicher Weise gemäss den üblichen Gefriertrocknungsmethoden hergestellt werden, wobei man jedoch alle Vorsichtsmassregeln ergreift, die bei der Manipulation von toxischen Substanzen, wie Anthracyclinglycosiden, erforderlich sind. So werden z.B. das Cosolubilisierungsmittel, das Anthracyclinglycosid und das inerte Excipiens nacheinander unter Rühren in einer geeigneten Menge entlüftetem Wasser für Injektionszwecke zur Auflösung gebracht, und dann wird weiteres Wasser zugesetzt, um das gewünschte Endvolumen zu erreichen. Die resultierende Lösung wird geklärt und unter sterilen Bedingungen filtriert und in sterilen Behältern (Ampullen) des gewünschten Fassungsvermögens verteilt. Das Gefrieren der Lösung, z.B. bei -40 bis -50°C während ca. 4 bis 5 Stunden, und das Trocknen, z.B. bei einer Endtemperatur von 40 bis 50°C während ca. 6 bis 7 Stunden, werden dann ausgeführt, und die Ampullen werden unter sterilen Bedingungen nach dem üblichen Verfahren abgedichtet.

Die trockenen ungeöffneten Ampullen sind mindestens 3 Monate lang bei 40°C vollständig beständig. Auch die Rekonstituierung der gefriergetrockneten Präparate, z.B. mit steriler physiologischer Kochsalzlösung, wird in herkömmlicher Weise ausgeführt. So wird die physiologische Kochsalzlösung (0,9-%ige wässrige Natriumchloridlösung) z.B. in einem Volumen verwendet, das in Abhängigkeit von der Art und von der Menge des in dem lyophilisierten Kuchen enthaltenen wirksamen Prinzips variieren kann: Volumen von 5 ml bis 25 ml physiologischer Kochsalzlösung

können z. B. verwendet werden, um Mengen von 5 mg bis 50 mg Anthracyclinglycosid zu rekonstituieren.

Die erfindungsgemässen rekonstituierten Lösungen haben einen pH-Wert, der zwischen ca. 3 und ca. 6,5 variieren kann, was besonders von der Natur des Cosolubilisierungsmittels abhängt. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind die sterilen injizierbaren Lösungen, die nach der Rekonstituierung, insbesondere mit physiologischer Kochsalzlösung, der erfindungsgemässen lyophilisierten Präparate erhalten werden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer injizierbaren Lösung eines Anthracyclinglycosides, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man ein lyophilisiertes Präparat, das das Anthracyclinglycosid oder ein pharmazeutisch unbedenkliches Salz davon und ein Cosolubilisierungsmittel enthält, wobei das Cosolubilisierungsmittel eine hydroxyl-, mercapto- oder amino-substituierte Benzoesäure oder ein Alkalimetallsalz davon oder ein Alkylester mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkylrest davon oder ein ringhalogeniertes methylsubstituiertes Phenol oder eine Aminosäure oder eine Kombination von zwei oder mehr der genannten Verbindung ist, in einer für die Injektion geeigneten Lösung, insbesondere in physiologischer Kochsalzlösung, auflöst.

Zusätzlich kann eine Verbesserung der Löslichkeit eines Anthracyclinglycosides in einer injizierbaren Lösung erreicht werden, indem man das Anthracyclinglycosid mit einem erfindungsgemässen Cosolubilisierungsmittel formuliert. Infolge der wohlbekannten Antitumoraktivität der Anthracyclinglycosid-Wirkstoffsubstanz sind die erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparate brauchbar für die Behandlung von Tumoren bei sowohl menschlichen als auch tierischen Tumorträgern.

Beispiele von Tumoren, die behandelt werden können, sind z. B. Sarkome, einschliesslich osteogener und Weichteilsarkome, Karzinome, z. B. Brust-, Lungen-, Blasen-, Schilddrüsen-, Prostata- und Eierstockkarzinom, Lymphome, einschliesslich Hodgkin-Lymphom und davon verschiedenen Lymphomen, Neuroblastom, Wilms-Tumor und Leukämien, einschliesslich akuter Lymphoblastenleukämie und akuter myeloblastärer Leukämie.

Beispiele von spezifischen Tumoren, die behandelt werden können, sind Moloney Sarcoma Virus, Sarcoma 180 Ascites, Solid Sarcoma 180, transplantierbare Gross-Leukämie, L 1210-Leukämie und Lymphozyten-P 388-Leukämie.

Zur Hemmung des Wachstums eines Tumors, insbesondere eines der oben angegebenen, kann man also einem Tumorträger, der an dem genannten Tumor leidet, eine injizierbare Lösung verabreichen, die durch Rekonstituierung eines erfindungsgemässen lyophilisierten Präparates erhalten wurde, das die Wirkstoffsubstanz in einer Menge enthält, die genügt, um das Wachstum des Tumors zu hemmen.

Die erfindungsgemässen injizierbaren rekonstituierten Lösungen werden durch schnelle intravenöse Injektion oder Infusion nach einer Vielzahl von möglichen Dosierungsschemata verabreicht. Ein geeignetes Dosierungsschema für Doxorubicin kann z. B. aus 60 bis 75 mg Wirkstoffsubstanz pro m² Körperoberfläche bestehen, die als einzelne schnelle Infusion verabreicht werden, die nach 21 Tagen wiederholt wird; ein alternatives Schema kann aus 30 mg/m² und Tag auf intravenösem Wege während 3 Tagen alle 28 Tage bestehen.

Geeignete Dosierungen für 4'-Epi-doxorubicin und 4'-Desoxy-doxorubicin sind z. B. 75 bis 90 mg/m² bzw. 25 bis 35 mg m², die in einer einzigen Infusion verabreicht werden, die nach 21 Tagen wiederholt werden soll.

Idarubicin, das heisst 4-Desmethoxy-daunorubicin, kann z. B. bei der Behandlung von festen Tumoren intravenös in einer einzigen Dosis von 13 bis 15 mg/m² alle 21 Tage verab-

reicht werden, während ein bevorzugtes Dosierungsschema bei der Behandlung von Leukämien z. B. 10 bis 12 mg/m² und Tag auf intravenösem Wege während 3 Tagen ist, das alle 15 bis 21 Tage wiederholt werden soll; ähnliche Dosierungen können z. B. auch für Daunorubicin befolgt werden.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, sollen sie aber in keiner Weise einschränken.

Beispiel 1

Lyophilisierte Doxorubicin-Formulierungen wurden nach dem unten angegebenen Verfahren hergestellt. Die relativen Mengenverhältnisse der verschiedenen Komponenten, die bei der Herstellung verwendet wurden, sind unten angegeben (Mengen pro Ampulle):

15	Doxorubicin · HCl	10,00 mg
	Lactose · H ₂ O	52,63 mg (äquivalent 50 mg wasserfreier Lactose)

20	p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	0,50 mg
----	----------------------------------	---------

	Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 2,50 ml
--	-----------------------------	------------------

Der p-Hydroxy-benzoesäuremethylester, das Doxorubicin.HCl und die Lactose wurden nacheinander unter Rühren in Wasser für Injektionszwecke gelöst, das durch Hindurchperlenlassen von Stickstoff entlüftet worden war (ca. 90% des am Ende erforderlichen Wasservolumens). Dann wurde entlüftetes Wasser für Injektionszwecke zugesetzt, um das Endvolumen zu erhalten. Die Lösung wurde durch ein Faser Glasvorfilter und eine mikroporöse 0,45 Mikrometer-Membran geklärt und dann unter sterilen Bedingungen durch eine mikroporöse 0,22 Mikrometer-Membran filtriert; das Filtrat wurde direkt in sterilem Bereich gesammelt. Volumen von 2,5 ml der Lösung wurden unter sterilen Bedingungen automatisch in sterilen farblosen Glasampullen vom Typ III mit 8/10 ml Fassungsvermögen verteilt.

Die Lösungen wurden in den Ampullen bei einer Temperatur von -40 bis -45 °C 4 bis 5 Stunden lang gefroren. Dann wurde die Lyophilisierung ausgeführt, wobei das Produkt in der Endstufe bei einer Temperatur von 43 bis 45 °C 6 bis 7 Stunden lang getrocknet wurde. Die Ampullen wurden mit sterilen Chlorbutylkautschukstopfen verschlossen und mit sterilen Aluminiumkappen abgedichtet.

Nach einem analogen Verfahren wurden lyophilisierte Doxorubicin-Formulierungen, die 20 mg Wirkstoffsubstanz enthielten, aus den folgenden Bestandteilen hergestellt:

45	Doxorubicin · HCl	20,00 mg
	Lactose · H ₂ O	105,26 mg
50	p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	2,00 mg
	Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 3,00 ml

Die Gefriertrocknung wurde in Glasampullen vom Typ III mit 20/26 ml Fassungsvermögen ausgeführt.

Wiederum nach einem analogen Verfahren wurden gefriergetrocknete Doxorubicin-Formulierungen, die 50 mg Wirkstoffsubstanz enthielten, aus den folgenden Bestandteilen hergestellt:

65	Doxorubicin · HCl	50,00 mg
	Lactose · H ₂ O	263,15 mg
	p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	5,00 mg
	Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 5,00 ml

Die Gefriertrocknung wurde in Glasampullen vom Typ III mit 50/57 ml Fassungsvermögen ausgeführt.

Lyophilisierte Doxorubicin-Formulierungen, die den oben beschriebenen analog waren, aber p-Hydroxy-benzoesäure bzw. p-Amino-benzoesäure oder Salicylsäure oder 3-Methyl-4-chlorphenol oder 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol oder Glycin oder Cystein oder Phenylalanin oder Prolin anstelle von p-Hydroxy-benzoesäuremethylester enthielten, wurden ebenfalls nach analogen Verfahren hergestellt. Insbesondere wurden z.B. die folgenden Formulierungen gefriergetrocknet:

10 mg-Formulierung

Doxorubicin · HCl	10,00 mg
Lactose · H ₂ O	52,63 mg
3-Methyl-4-chlorphenol	1,00 mg
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 2,50 ml

20 mg-Formulierung

Doxorubicin · HCl	20,00 mg
Lactose · H ₂ O	105,26 mg
p-Hydroxy-benzoesäure	2,00 mg
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 3,00 ml

Die Gefriertrocknung dieser Formulierungen wurde wie weiter oben in diesem Beispiel für Formulierungen mit der gleichen Doxorubicin-Dosierung ausgeführt.

Die oben und in den folgenden Beispielen für die verschiedenen Komponenten angegebenen Mengen sind Mengen pro Ampulle.

Beispiel 2

In analoger Weise wie in Beispiel 1 beschrieben wurden lyophilisierte 4'-Epi-doxorubicin-Formulierungen hergestellt, die 10, 20 und 50 mg Wirkstoffsubstanz enthielten. Die relativen Mengenverhältnisse der bei der Herstellung verwendeten verschiedenen Komponenten waren wie unten angegeben:

	10 mg-Formulierung	20 mg-Formulierung	50 mg-Formulierung
4'-Epi-doxorubicin · HCl	10,00 mg	20,00 mg	50,00 mg
Lactose · H ₂ O	52,63 mg	105,26 mg	263,15 mg
p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	1,00 mg	2,00 mg	5,00 mg
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 2,50 ml	Rest bis 3,00 ml	Rest bis 5,00 ml

Die drei obigen Formulierungen wurden wie in Beispiel 1 beschrieben in Glasampullen vom Typ III gefriergetrocknet, die ein Fassungsvermögen von 8/10 ml bzw. 20/26 ml bzw. 50/57 ml hatten.

Ähnliche gefriergetrocknete 4'-Epi-doxorubicin-Formulierungen wurden auch in analoger Weise hergestellt, enthielten aber ein Cosolubilisierungsmittel, das aus p-Hydroxy-benzoesäure, p-Amino-benzoesäure, Salicylsäure, 3-Methyl-4-chlorphenol, 3,5-Dimethyl-4-chlorphenyl oder Glycin oder

Cystein oder Phenylalanin oder Prolin bestand, anstelle von p-Hydroxy-benzoesäuremethylester.

Beispiel 3

Nach einem analogen Verfahren wie dem in Beispiel 1 beschrieben wurden lyophilisierte 4'-Desoxy-doxorubicin-Formulierungen hergestellt, die 5 und 25 mg Wirkstoffsubstanz enthielt. Die relativen Mengenverhältnisse der bei der Herstellung verwendeten verschiedenen Komponenten waren wie unten angegeben:

	5 mg-Formulierung	25 mg-Formulierung
4'-Desoxy-doxorubicin · HCl	5,00 mg	25,00 mg
Lactose · H ₂ O	52,63 mg	263,15 mg
p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	0,50 mg	2,50 mg
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis 2,00 ml	Rest bis 5,00 ml

Die beiden Formulierungen wurden gemäss dem Verfahren von Beispiel 1 in Glasampullen vom Typ III gefriergetrocknet, die ein Fassungsvermögen von 8/10 ml bzw. 50/57 ml hatten.

Es wurden auch analoge lyophilisierte Formulierungen hergestellt, die jedoch p-Hydroxy-benzoesäure oder p-Amino-benzoesäure oder Salicylsäure oder 3-Methyl-4-

chlorphenol oder 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol oder Glycin oder Cystein oder Phenylalanin oder Prolin anstelle von p-Hydroxy-benzoesäuremethylester enthielten.

Beispiel 4

In analoger Weise wie in Beispiel 1 wurden lyophilisierte Formulierungen hergestellt, die Daunorubicin (20 bzw.

50 mg Wirkstoffsubstanz) oder 4-Desmethoxy-daunorubicin (5 bzw. 10 mg Wirkstoffsubstanz) enthielten. Die relativen

Mengenverhältnisse der Komponente in den verschiedenen Formulierungen waren wie unten angegeben:

	20 mg-Formulierung		50 mg-Formulierung	
Daunorubicin · HCl	20,00 mg		50,00 mg	
Mannit	100,00 mg		250,00 mg	
p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	2,00 mg		5,00 mg	
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis	3,00 ml	Rest bis	7,5 ml

	5 mg-Formulierung		10 mg-Formulierung	
4-Desmethoxy-daunorubicin · HCl	5,00 mg		10,00 mg	
Lactose · H ₂ O	52,63 mg		105,26 mg	
p-Hydroxy-benzoesäuremethylester	0,50 mg		1,00 mg	
Wasser für Injektionszwecke	Rest bis	2,00 ml	Rest bis	3,00 ml

Die Gefriertrocknung wurde in Glasampullen vom Typ I für Daunorubicin enthaltende Formulierungen ausgeführt: Ampullen mit einem Fassungsvermögen von 10/14 ml für 20 mg-Formulierungen bzw. Ampullen mit einem Fassungsvermögen von 50/57 ml für 50 mg-Formulierungen wurden verwendet. Glasampullen vom Typ III wurden für die Gefriertrocknung von 4-Desmethoxy-daunorubicin enthaltenden Formulierungen verwendet: Das Fassungsvermögen der Ampullen betrug 8/10 ml für 5 mg-Formulierungen und 20/26 ml für 10 mg-Formulierungen.

Analoge lyophilisierte Präparate, die aber p-Hydroxy-benzoesäure oder p-Amino-benzoesäure oder Salicylsäure oder 3-Methyl-4-chlorphenol oder 3,5-Dimethyl-4-chlorphenol oder Glycin oder Cystein oder Phenylalanin oder Prolin anstelle von p-Hydroxy-benzoesäuremethylester enthielten, wurden ebenfalls hergestellt.

Beispiel 5

Jede in den vorhergehenden Beispielen erhaltene lyophilisierte Formulierung wurde in herkömmlicher Weise mit physiologischer Kochsalzlösung rekonstituiert. Das bei der Rekonstituierung verwendete Volumen der physiologischen

Kochsalzlösung hing von der Art und der Menge der Wirkstoffsubstanz in den gefriergetrockneten Präparaten ab. Somit wurden z. B. gefriergetrocknete Präparate, die 10 mg Doxorubicin.HCl oder 10 mg 4'-Epi-doxorubicin.HCl enthielten, sowie solche, die 5 mg 4'-Desoxy-doxorubicin.HCl oder 5 mg 4-Desmethoxy-daunorubicin.HCl enthielten, mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung rekonstituiert.

Gefriergetrocknete Präparate, die 20 mg Doxorubicin.HCl oder 20 mg 4'-Epi-doxorubicin.HCl oder 10 mg 4-Desmethoxy-daunorubicin.HCl oder 20 mg Daunorubicin.HCl enthielten, wurden mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung rekonstituiert, während ein Volumen von 25 ml physiologischer Kochsalzlösung verwendet wurde, um lyophilisierte Formulierungen zu rekonstituieren, die 50 mg Doxorubicin.HCl oder 50 mg 4'-Epi-doxorubicin.HCl oder 50 mg Daunorubicin.HCl oder 25 mg 4'-Desoxy-doxorubicin.HCl enthielten.

In allen Fällen war die Rekonstituierungszeit sehr kurz, indem eine vollständige Auflösung in ca. 5 bis 20 Sekunden beobachtet wurde und in keinem Falle mehr als 30 Sekunden erforderte.