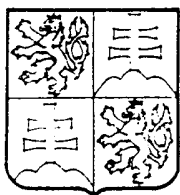


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

270 421

(11)

(13) B2

(51) Int. Cl.⁴
C 07 H 15/24

(21) PV 7565-85.A
(22) Přihlášeno 22 10 85
(30) Právo přednosti od 22 10 84
GB (84 26672)

(40) Zveřejněno 14 11 89
(45) Vydáno 04 06 91

(72) Autor vynálezu

GATTI GAETANO,
OLDANI DIEGO,
CONFALONIERI CARLO,
GAMBINI LUCIANO, MILÁN (IT)
FARMITALIA CARLO ERBA S.r.l.,
MILÁN (IT)

(73) Majitel patentu

(54)

Způsob výroby lyofilizovaného přípravku
obsahujícího anthracyklinový glykosid

(57)

Způsob výroby lyofilizovaného přípravku obsahujícího anthracyklinový glykosid zvolený z doxorubicinu, 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, daunorubicinu a 4-demethoxy-daunorubicinu nebo jejich farmaceuticky vhodné soli, kosolubilizační činidlo zvolené z kyseliny o- nebo p-hydroxybenzoové nebo jejich alkylesteru s 1 až 4 atomy uhlíku, 3-methyl-4-chlorfenolu, 3,5-dimethyl-4-chlorfenolu, glycinu, cysteinu, fenylalaninu, prolinu nebo jejich směsi a dále inertní přísadu, přičemž poměr mezi anthracyklinovým glykosidem a kosolubilizačním činidlem je 10 dílů glykosidu na 0,1 až 10 dílů kosolubilizačního činidla, spočívá v tom, že se do roztoku kosolubilizačního činidla ve vodě pro injekce přidá anthracyklinový glykosid nebo jeho sůl a inertní přísada, popřípadě se doplní voda pro injekce na konečný objem, roztok se za sterilních podmínek vyčerpá a filtruje a poté vymrazí při -40 až -50°C a nakonec se lyofilizát suší při 40 až 50°C. Lyofilizovaný přípravek významně zrychluje rozpouštění anthracyklinového glykosidu.

Tento vynález se týká způsobu výroby lyofilizovaného přípravku obsahujícího anthracyklinový glykosid nebo jeho farmaceuticky vhodnou sůl jako lékovou účinnou složku.

Lyofilizovaný přípravek vyráběný způsobem podle tohoto vynálezu je charakterizován také tím, že kromě účinné lékové složky obsahuje kosolubilizační činidlo, které umožňuje zvýšit rychlost rozpouštění lyofilizátu při rekonstituci, zejména jestliže se rekonstituce provádí salinickým roztokem. Lyofilizovaný přípravek obsahuje také inertní přísadu.

Je běžně známo, že rekonstituce se sterilním fyziologickým salinickým roztokem je výhodnější, než rekonstituce se sterilní vodou z hlediska získání rekonstituovaných izotonických roztoků, které mají tonicitu srovnatelnou s krví.

Je také známo, že problémy rozpustnosti je nutno při rekonstituci vzít v úvahu, zejména při použití fyziologického salinického roztoku pro rozpouštění lyofilizovaného přípravku, který obsahuje určité anthracyklinové glykosidy, protože lyofilizát se rozpouští poněkud pomaleji a úplné rozpouštění může vyžadovat delší třepání.

Tento problém má zvláštní význam z hlediska známé toxicity léčiv ze skupiny anthracyklinových glykosidů. Nyní bylo zjištěno, že přítomnost vhodného kosolubilizačního činidla v lyofilizovaném přípravku obsahujícím anthracyklinové glykosidy významně zrychluje rozpouštění léčiva, takže při rekonstituci, například fyziologickým salinickým roztokem nebo také se sterilní vodou, je úplného rozpouštění dosaženo bez obtíží v několika sekundách.

Předmětem tohoto vynálezu je proto způsob výroby lyofilizovaného přípravku obsahujícího anthracyklinový glykosid, se zlepšenou rozpustností v injekčních roztocích, kde lyofilizovaný přípravek obsahuje

I) anthracyklinový glykosid zvolený ze souboru zahrnujícího doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-doxorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin nebo jejich farmaceuticky vhodné soli,

II) kosolubilizační činidlo, kterým je kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová nebo jejich alkylester s 1 až 4 atomy uhlíku, 3-methyl-4-chlorfenol, 3,5-dimethyl-4-chlorfenol, glycin, cystein, fenylalanin, prolin nebo kombinace dvou nebo většího počtu uvedených sloučenin a

III) inertní přísadu,

příčemž poměr mezi anthracyklinovým glykosidem a kosolubilizačním činidlem je 10 dílů glykosidu na 0,1 až 10 dílů kosolubilizačního činidla, který spočívá v tom, že se

a) do roztoku kosolubilizačního činidla ve vodě pro injekce za míchání po sobě přidá anthracyklinový glykosid nebo jeho sůl a inertní přísada,

b) popřípadě se přidá další voda pro injekce, aby se dosáhlo požadovaného konečného objemu roztoku,

c) roztok se za sterilních podmínek vyčeří a filtruje,

d) roztok se vymrazí za teploty mezi -40 a -50 °C během 4 až 5 hodin a

e) lyofilizát se suší při konečné teplotě mezi 40 a 50 °C po dobu 6 až 7 hodin.

Vynález bude dále objasněn v širších souvislostech.

Anthracyklinový glykosid jako farmaceuticky účinná látka v lyofilizovaném přípravku vyrobitelném podle tohoto vynálezu, může být jakýkoli anthracyklinový glykosid, například jeden z glykosidů popsaných v britských patentech č. 1 161 278, 1 217 135, 1 457 632, 1 467 383, 1 500 421 a 1 151 559. Přímou používanými anthracyklinovými glykosidy podle tohoto vynálezu jsou doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, označovaný též jako

epirubicin, 4'-desoxy-doxorubicin, jinak zvaný též exorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin neboli idarubicin.

Kosolubilizačním činidlem podle vynálezu je kterékoli z takových činidel uvedených svrchu. Může tedy jít o sloučeninu vybranou ze souboru zahrnujícího kyselinu o-hydroxybenzoovou nebo kyselinu p-hydroxybenzoovou nebo jejich alkylestery s 1 až 4 atomy uhlíku, jako methylester, ethylester, propylester nebo butylester, methylem substituovaný fenol, který je na kruhu dále substituován atomem chloru, jako je 3-methyl-4-chlorfenol nebo 3,5-dimethyl-4-chlorfenol, aminokyseliny, zejména neutrální aminokyseliny, jako například neutrální alifatické aminokyseliny, jako je například glycerin, neutrální thioalifatické aminokyseliny, jako je například cystein, neutrální aromatické aminokyseliny, jako je například fenylalanin, nebo neutrální heterocyklické aminokyseliny, jako je například prolin, nebo kombinace dvou nebo většího počtu z těchto sloučenin.

Některé z výše uvedených kosolubilizačních činidel jsou známá jako ochranné látky/bakterostatika ve farmaceutických prostředcích, ale není nic známo o jejich možné úloze, spočívající ve zvyšování rozpustnosti a také rychlosti při rekonstituci lyofilizovaných přípravků, například přípravků, které obsahují anthracyklinové glykosidy. Například K.P.Flora a spol. se v J. Pharm. Pharmacol 32, 577 (1980) zmiňuje o lyofilizovaném přípravku s obsahem hydrochloridu doxorubicinu, obsahujícím 4 díly methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové jako ochranné látky, ale nezmiňuje se o možné úloze uvedených ochranných látek při rozpustnosti lyofilizovaných přípravků. Dále v článku Flory a spol. není žádná zmínka o tom, že roztoky použité pro vymrazovací postup mohou být vhodné pro injekční podání. Pokud je známo, roztoky pro injekce musí být sterilní, zejména vodné roztoky se získávají z lyofilizovaných přípravků jejich rozpuštěním ve sterilní a pyrogenní vodě pro injekce, zatímco toto není zahrnuto v případě roztoků uvedených v článku Flory a spol.

Způsob přípravy injekčních roztoků anthracyklinových glykosidů se vyznačuje rozpuštěním stabilního rychle rozpustného lyofilizovaného přípravku obsahujícího anthracyklinový glykosid nebo jeho farmaceuticky vhodnou sůl a kosolubilizační činidlo, kterým je kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová nebo jejich alkylester s 1 až 4 atomy uhlíku nebo chlorovaný fenol substituovaný methylem, jak je vymezen svrchu, nebo aminokyselina vymezená svrchu, nebo kombinace dvou nebo více těchto sloučenin, v roztoku vhodném pro injekci.

V přípravcích podle vynálezu anthracyklinový glykosid a kosolubilizační činidlo může být kterékoliv z uvedených, výhodným anthracyklinovým glykosidem je zejména doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-doxorubicin, daunorubicin nebo 4-demethoxy-daunorubicin, nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodným kosolubilizačním činidlem je buď sloučenina vybraná ze skupiny zahrnující p-hydroxybenzoovou kyselinu nebo její methylester, o-hydroxybenzoovou kyselinu a její methylester, 3-methylchlorfenol a 3,5-dimethyl-4-chlorfenol, nebo kombinace dvou nebo více uvedených sloučenin. Zejména výhodným kosolubilizačním činidlem je methylester p-hydroxybenzoové kyseliny.

V přípravcích podle vynálezu farmaceuticky vhodná sůl anthracyklinového glykosidu může být buď sůl s anorganickou kyselinou jako například kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou nebo fosforečnou, nebo sůl s organickou kyselinou, jako je například kyselina octová, benzoová, maleinová, fumarová, jantarová, vinná, citronová, exalová, glyoxalová, methansulfonová, ethansulfonová nebo benzensulfonová. Zejména výhodnou solí je sůl s kyselinou chlorovodíkovou. Roztoky vhodnými pro injekce mohou být zejména fyziologický salinický roztok.

V popise výrazy "farmaceutický" a "farmaceuticky" jsou vztaženy k aplikacím jak v humánní tak veterinární medicíně. Výrazy "lyofilizovaný" a "vymražený" se užívají bez rozlišení.

Zatímco hlavní komponenty lyofilizovaných přípravků podle vynálezu jsou anthracyklinové glykosidy jako aktivní léková složka a výše popsaná kosolubilizační složka, je obvykle jako další složka přítomna inertní přísada, kterou je například laktoza, mannitol, sorbitol nebo ~~maktoza~~ laktoza, výhodně laktoza ve vhodném množství.

Podle výše uvedeného je zvláště výhodným rysem vynálezu poskytnutí způsobu přípravy injekčního roztoku doxorubicinu, vyznačující se rozpuštěním stabilního rychle rozpustného lyofilizovaného přípravku obsahujícího hydrochlorid doxorubicinu jako účinnou lékovou složku, methylester kyseliny p-hydroxybenzoové jako kosolubilizační složku a laktozu jako inertní přísadu v roztoku vhodném pro injekci, zvláště ve fyziologickém salinickém roztoku.

Vzájemné poměry účinné složky léčiva a kosolubilizační složky v přípravcích podle vynálezu jsou takové, že na 10 dílů hmotnostních účinné lékové složky je přítomno asi 0,1 až 10, výhodně 0,5 až 2 hmotnostní díly kosolubilizačního činidla; zvláště výhodný hmotnostní poměr mezi kosolubilizační a účinnou složkou je 1:10. Lyofilizované přípravky použité ve způsobu podle vynálezu mohou obsahovat účinnou lékovou složku v různém množství; typické přípravky obsahují například 5, 10, 20, 25 nebo 50 mg anthracyklinového glykosidu.

Jak již bylo uvedeno, přítomnost kosolubilizačního činidla v lyofilizovaných přípravcích podle vynálezu zvyšuje značně rozpustnost léčiva, takže doby rozpouštění při rekonstituci, například fyziologickým salinickým roztokem, se značně snižují, dokonce z asi 2 minut (pro rekonstituci fyziologických přípravků neobsahujících kosolubilizační činidlo) na 10 až 30 sekund nebo méně.

Lyofilizované přípravky použité v postupu podle vynálezu lze připravit běžným způsobem, který zahrnuje obvyklé vymrazovací postupy při zachování veškerých opatření nutných při manipulaci s toxickými látkami, jako jsou anthracyklinové glykosidy. Tak například kosolubilizační složka, anthracyklinový glykosid a inertní přísada se postupně za míchání rozpustí ve vhodném množství odvdzušněné vody pro injekci a poté se přidá další podíl vody k dosažení požadovaného konečného objemu. Vzniklý roztok se vyčeří, zfiltruje za sterilních podmínek a plní do sterilních nádobek (lékovek) požadovaného objemu. Pak se provede vymrazení roztoku například při -40 až -50 °C po dobu 4 až 5 hodin a vysušení například při konečné teplotě 40 až 50 °C po dobu 6 až 7 hodin. Lahvičky se pak za sterilních podmínek uzavřou obvyklým způsobem.

Suché neotevřené lékovky jsou zcela stabilní nejméně 3 měsíce při 40 °C. Také rekonstituce lyofilizovaných přípravků, například sterilním fyziologickým salinickým roztokem, se provede běžným způsobem. Tak například fyziologický salinický roztok (0,9% vodný roztok chloridu sodného) se použije v objemu, který může kolísat v závislosti na druhu a množství účinné složky obsažené v lyofilizátu: například pro rekonstituci množství od 5 mg do 50 mg anthracyklinových glykosidů může být použito objemů od 5 ml do 25 ml fyziologického salinického roztoku.

Rekonstituované roztoky podle vynálezu mají pH, které může kolísat mezi asi 3 a asi 6,5 v závislosti zejména na podstatě kosolubilizační složky.

Kromě toho vynález skýtá jako další rys způsob zlepšení rozpustnosti anthracyklinových glykosidů v injekčních roztocích, zejména ve fyziologickém salinickém roztoku, který je charakterizován přípravou přípravků obsahujících anthracyklinové glykosidy s kosolubilizačními činidly podle vynálezu. Vzhledem k velmi dobře známé protinádorové účinnosti anthracyklinových glykosidů jako účinné lékové složky, jsou injekční roztoky podle vynálezu vhodné pro léčení tumoru jak v humánní tak veterinární medicíně.

Příklady tumorů, které mohou být léčeny, jsou například sarkomy včetně osteogenních sarkomů a sarkomů měkké tkáně, karcinomy, například prsu, plic, močového měchýře, štítné žlázy, vaječníků, prostaty, lymfomů, včetně Hodgkinových a ne-Hodgkinových lymfomů, neuroblastomy, Willms-tumory, leukemie včetně akutní lymfoblastické leukemie a akutní myeloblastické leukemie.

Příklady specifických tumorů, které lze léčit jsou Moloney Sarcoma Virus, Sarcoma 180 Ascites, Solid Sarcoma 180, L 1210 leukemie a lymfocytická P 388 leukemie.

Injekční rekonstituované roztoky podle vynálezu se podávají rychlou intravenozní injekcí nebo infuzí v závislosti na různých možných dávkách. Vhodné dávky pro doxorubicin mohou být například od 60 do 75 mg účinné látky na 1 m² tělesného povrchu jako jednorázová rychlá infuze opakovaná po 21 dnech, alternativní dávka může být 30 mg.m⁻².d⁻¹ intravenozním způsobem po dobu tří dní opakovaně po 28 dnech.

Vhodné dávky pro 4'-epi-doxorubicin a 4'-desoxy-doxorubicin mohou být například 75 až 90 mg.m⁻², popřípadě 25 až 35 mg.m⁻², podaných jednoduchou infuzí opakovanou po 21 dnech.

Idarubicin, tj. 4-demethoxy-daunorubicin, může být například podán intravenozně v jednotlivé dávce 13 až 15 mg.m⁻² každých 21 dní při léčení solidních tumorů, zatímco při léčení leukemií je preferovaná dávka například 10 až 12 mg.m⁻² denně intravenozním způsobem po dobu tří dnů, která má být opakována každých 15 až 21 dní; podobným způsobem může být dávkován také daunorubicin.

Následující příklady vynález ilustrují, aniž by jej jakkoliv omezovaly.

Příklad 1

Lyofilizované přípravky obsahující doxorubicin se připraví níže popsaným způsobem. Vzájemné poměry použitých komponent v přípravku jsou uvedeny níže (množství v jedné lahvičce):

doxorubicin.HCl	10,00 mg
laktoza.H ₂ O	52,63 mg (ekvivalent 50mg laktozy bezvodé)
methylester p-hydroxybenzoové kyseliny	0,50 mg
voda pro injekce	q.s. 2,50 ml

Methylester kyseliny p-hydroxybenzoové, hydrochlorid doxorubicinu a laktoza se postupně za míchání rozpustí ve vodě pro injekci odvdoušené probubláním dusíkem (asi 90 % konečného požadovaného objemu vody). Odplyněná voda pro injekci se pak přidá k doplnění vody na konečný objem. Roztok se pak vyčistí přechodem přes předfiltr ze skelných vláken a mikroporézní membránou 0,45 μm a pak se filtruje za sterilních podmínek mikroporézní membránovým filtrem 0,22 μm; filtrát se přímo shromažďuje ve sterilním prostředí. Automaticky se dávkuje 2,5 ml roztoku za sterilních podmínek do sterilních skleněných bezbarvých lahviček - typ III - objemu 8/10 ml.

Roztoky se vymrazí v lahvičkách při teplotě -40 až -45 °C po dobu 4 až 5 hodin. Lyofilizace se pak ukončí vysušením produktu ve finálním stupni při teplotě 43 až 45 °C po dobu 6 až 7 hodin. Lahvičky se pak uzavřou sterilními chlorbutylkaučukovými zátkami a zapertlují aluminiovými sterilními pertly.

Analogickým postupem se připraví lyofilizované přípravky obsahující 20 mg doxorubicinu jako účinné složky z následujících komponent:

doxorubicin.HCl	20 mg
laktoza.H ₂ O	105,25 mg
methylester kyseliny	
p-hydroxybenzoové	2 mg
voda pro injekci	q.s. 3,00 ml

Lyofilizace se provede ve skleněných lahvičkách typu III objemu 20/26 ml.

Opět analogickým postupem se připraví lyofilizované přípravky obsahující 50 mg doxorubicinu jako účinné složky z následujících komponent:

doxorubicin.HCl	50,00 mg
laktoza.H ₂ O	263,15 mg
methylester kyseliny	
p-hydroxybenzoové	5,00 mg
voda pro injekce	q.s. 5,00 ml

Lyofilizace se provede ve skleněných lahvičkách typu III objemu 50/57 ml.

Lyofilizované přípravky obsahující doxorubicin, analogické výše popsaným, ale obsahující kyselinu p-hydroxybenzoovou nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo 3,5-dimethyl-4-chlorfenol nebo glycin, nebo cystein nebo fenylalanin nebo prolin místo methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové, byly připraveny rovněž analogickým postupem. Zejména byly lyofilizovány následující přípravky:

10 mg přípravek	
doxorubicin.Hcl	10,00 mg
laktoza.H ₂ O	52,63 mg
3-methyl-4-chlorfenol	1,00 mg
voda pro injekce	q.s. do 2,50 ml
20 mg přípravek	
doxorubicin.HCl	20,00 mg
laktoza.H ₂ O	105,26 mg
kyselina p-hydroxybenzoová	2,00 mg
voda pro injekce	q.s. do 3,00 ml

Lyofilizace těchto přípravků se provede stejným způsobem jak je uvedeno v tomto příkladu pro přípravky stejného obsahu doxorubicinu.

Množství uvedené výše a v následujících příkladech pro různé komponenty znamená množství na jednu lahvičku.

Příklad 2

Analogickým způsobem jak je uvedeno v příkladu 1, byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující 10, 20 a 50 mg 4'-epi-doxorubicinu jako účinné složky. Vzájemné poměry jednotlivých komponent použitých při přípravě jsou uvedeny níže.

	10 mg <u>přípravek</u>	20 mg <u>přípravek</u>	50 mg <u>přípravek</u>
4'-epi-doxorubicin.HCl	10,00 mg	20,00 mg	50,00 mg
laktoza H ₂ O	52,63 mg	105,26 mg	263,15 mg
kyselina p-hydroxybenzoová (methylester)	1,00 mg	2,00 mg	5,00 mg
voda pro injekce q.s. do	2,50 ml	3,00 ml	5,00 ml

Analogicky byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující však místo methyl-esteru kyseliny p-hydroxybenzoové kyselinu p-hydroxybenzoovou nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo 3,5-dimethyl-4-chlorfenol nebo glycin nebo cystein nebo fenylalanin nebo prolin.

Příklad 5

Každý z lyofilizovaných přípravků připravených v předcházejících příkladech byl rekonstituován rozpuštěním ve fyziologickém salinickém roztoku běžným způsobem. Objem fyziologického salinického roztoku užíteho při rekonstituci byl závislý na druhu a množství účinné složky v lyofilizovaném přípravku. Tak například, lyofilizované přípravky obsahující 10 mg doxorubicinu.HCl nebo 10 mg 4'-epi-doxorubicinu.HCl, rovněž jako přípravky obsahující 5 mg 4'-desoxy-doxorubicin.HCl nebo 4-demethoxy-daunorubicin.HCl, byly rekonstituovány s 5 ml fyziologického salinického roztoku.

Lyofilizované přípravky obsahující 20 mg doxorubicin.HCl nebo 20 mg 4'-epi-doxorubicin.HCl nebo 10 mg 4-demethoxy-daunorubicin.HCl nebo 20 mg daunorubicin.HCl, byly rekonstituovány 10 ml salinického fyziologického roztoku, zatímco pro lyofilizované přípravky obsahující 50 mg doxorubicin.HCl nebo 50 mg 4'-epi-doxorubicin.HCl nebo 50 mg daunorubicin.HCl nebo 25 mg 4'-desoxy-doxorubicin.HCl, byl použit objem 25 ml fyziologického salinického roztoku.

Ve všech případech byla doba rekonstituce velmi krátká, k úplnému rozpuštění postačovala doba asi 5 až 20 sekund, v ojedinělých případech nevyžadovalo rozpouštění více než 30 sekund.

Příklad 6

Tento příklad ilustruje rozsah snížení doby rozpuštění (doby rekonstituce) lyofilizovaného koláče.

Jako přípravky se zvolily formulace, které obsahují doxorubicin a 4'-epi-doxorubicin, tedy reprezentativní anthracyklinové glykosidy podle tohoto vynálezu, společně s kosolubilizačním činidlem. Jako srovnávací přípravky se použily odpovídající lyofilizované formulace doxorubicinu a 4'-epi-doxorubicinu, které neobsahovaly žádné kosolubilizační činidlo.

Pro zkoušky se použilo komerčních anthracyklinových léčiv uvedených svrchu, které obsahovaly výlučně účinnou látku a laktózu, jako inertní přísadu.

Při srovnávacích zkouškách se stanovila doba rekonstituce nově lyofilizovaných doxorubicinových přípravků a 4'-epi-doxorubicinových přípravků s obsahem kosolubilizačního činidla zvyšujícího rychlost rozpouštění lyofilizovaného preparátu a zjištěné hodnoty se porovnávaly s dobou rekonstituce odpovídajících lyofilizovaných formulací doxorubicinu a 4'-epi-doxorubicinu, které neobsahovaly kosolubilizační činidlo.

Při zkouškách první formulace obsahující toliko 10 mg hydrochloridu doxorubicinu a bezvodou laktózu jako inertní přísadu (formulace 1) se porovnávala se čtyřmi odpovídajícími novými formulacemi ("rychle rozpustné" formulace A až D), z nichž každá obsahovala další složku a to kosolubilizační činidlo, kterým je buď methylester kyseliny p-hydroxybenzoové nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová.

Obdobné porovnání se provedlo mezi druhou formulací obsahující pouze 50 mg hydrochloridu doxorubicinu a bezvodou laktózu jako inertní přísadu (formulace 2) a čtyřmi odpovídajícími novými formulacemi ("rychle rozpustné" formulace E až H), z nichž každá obsahovala další složku a to kosolubilizační činidlo, kterým je opět buď methylester kyseliny p-hydroxybenzoové nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová.

Tyto tři výše uvedené přípravky byly lyofilizovány způsobem uvedeným v příkladu 1 ve skleněných lahvičkách objemu 8/10 ml, 20/26 ml a 50/57 ml.

Podobně byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující 4'-epi-doxorubicin, ale obsahující jako kosolubilizační činidlo místo methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové kyselinu p-hydroxybenzoovou, 3-methyl-4-chlorfenol, 3,5-dimethyl-4-chlorfenol, glycin, cystein, fenylalanin a prolin.

Příklad 3

Analogickým postupem jako v příkladu 1 byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující 5 a 25 mg 4'-desoxy-doxorubicinu jako účinné složky. Vzájemné poměry jednotlivých komponent použitých v přípravcích jsou uvedeny níže:

	5 mg přípravek	25 mg přípravek
4'-desoxy-doxorubicin.HCl	5,00 mg	25,00 mg
laktoza.H ₂ O	52,63 mg	263,15 mg
methylester kyseliny		
p-hydroxybenzoové	0,50 mg	2,50 mg
voda pro injekce	q.s. do 2,00 ml	q.s. do 5,00 ml

Tyto dva přípravky byly lyofilizovány způsobem uvedeným v příkladu 1 ve skleněných lahvičkách typu III objemu 8/10 nebo 50/57 ml.

Analogickým způsobem byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující však místo methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové kyselinu p-hydroxybenzoovou nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo 3,5-dimethyl-4-chlorfenol nebo glycin nebo cystein nebo fenylalanin nebo prolin.

Příklad 4

Analogickým postupem jak je uveden v příkladu 1 byly připraveny lyofilizované přípravky obsahující jako účinnou složku daunorubicin 20 mg a popřípadě 50 mg účinné složky) nebo 4-demethoxy-daunorubicin (5 a popřípadě 10 mg účinné složky). Vzájemné poměry jednotlivých komponent v různých přípravcích jsou uvedeny níže:

	20 mg přípravek	50 mg přípravek
daunorubicin.HCl	20,00 mg	50,00 mg
mannitol	100,00 mg	250,00 mg
methylester kyseliny		
p-hydroxybenzoové	2,00 mg	5,00 mg
voda pro injekce	q.s. do 3,00 mg	q.s. do 7,5 ml

	5 mg přípravek	10 mg přípravek
4-demethoxy-daunorubicin.HCl	5,00 mg	10,00 mg
laktoza.H ₂ O	52,63 mg	105,26 mg
methylester kyseliny		
p-hydroxybenzoové	0,50 mg	1,00 mg
voda pro injekce	q.s. do 2,00 ml	q.s. do 3,00 ml

Pro lyofilizaci přípravků obsahujících daunorubicin byly užity skleněné lahvičky typu I: pro přípravek 20 mg lahvičky objemu 10/14 ml, pro přípravek 50 mg lahvičky objemu 50/57 ml. Pro přípravky obsahující 4-demethoxy-daunorubicin byly při lyofilizaci užity skleněné lahvičky typu III: pro přípravek 5 mg lahvičky objemu 8/10 ml, pro přípravek 10 mg lahvičky objemu 20/26 ml.

Dále se provedlo porovnání lyofilizované formulace obsahující pouze 10 mg 4'-epi-doxorubicin-hydrochloridu a bezvodou laktózu jako inertní přísadu (formulace 3), se čtyřmi odpovídajícími novými formulacemi podle vynálezu ("rychle rozpustné" formulace A' až D'), z nichž každá obsahovala další složku a to kosolubilizační činidlo, kterým je buď methylester kyseliny p-hydroxybenzoové nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová.

Analogické porovnání se provedlo také mezi lyofilizovanou formulací obsahující pouze 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu a bezvodou laktózu jako inertní přísadu (formulace 4) a čtyřmi odpovídajícími novými formulacemi podle vynálezu ("rychle rozpustné" formulace E' až H'), z nichž každá jako další složku obsahovala kosolubilizační činidlo, kterým je opět methylester kyseliny p-hydroxybenzoové nebo 3-methyl-4-chlorfenol nebo kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová.

Ve všech případech se rekonstituce lyofilizovaných preparátů prováděla s fyziologickým salinickým roztokem, to znamená 0,9 % roztokem chloridu sodného pro injekce (USP). 5 ml fyziologického salinického roztoku se použilo pro rekonstituci lahviček (lékovek) pro lyofilizaci s obsahem 10 mg anthracyklinového glykosidu, zatímco 25 ml fyziologického salinického roztoku se použilo pro rekonstituci lahviček pro lyofilizaci, s obsahem 50 mg anthracyklinového glykosidu.

Doba potřebná pro úplné rozpuštění lyofilizovaného koláče se měřila a výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách I a II.

Tabulka I

Lyofilizované formulace	Doba rekonstituce (s)
formulace 1	240
formulace A	10
formulace B	10
formulace C	10
formulace D	10
formulace 2	240
formulace E	15
formulace F	15
formulace G	20
formulace H	25

formulace 1: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu doxorubicinu a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace A: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu doxorubicinu, 1 mg methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace B: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu doxorubicinu, 1 mg 3-methyl-4-chlorfenolu a 50 mg bezvodé laktózy.,
 formulace C: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu doxorubicinu, 1 mg kyseliny o-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace D: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu doxorubicinu, 1 mg kyseliny p-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace 2: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu doxorubicinu a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace E: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu doxorubicinu, 5 mg methylesteru kyseliny p-hydrobenzoové a 250 mg bezvodé laktózy,

formulace F: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu doxorubicinu, 5 mg 3-methyl-4-chlorfenolu a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace G: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu doxorubicinu, 5 mg kyseliny o-hydroxybenzoové a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace H: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu doxorubicinu, 5 mg kyseliny p-hydroxybenzoové a 250 mg bezvodé laktózy.

Tabulka II

Lyofilizovaná formulace	Doba rekonstituce (s)
formulace 3	200
formulace A ⁻	10
formulace B ⁻	10
formulace C ⁻	10
formulace D ⁻	10
formulace 4	230
formulace E ⁻	20
formulace F ⁻	20
formulace G ⁻	20
formulace H ⁻	25

formulace 3: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace A⁻: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 2 mg methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace B⁻: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 2 mg 3-methyl-4-chlorfenolu a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace C⁻: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 2 mg kyseliny o-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace D⁻: lyofilizační lahvička obsahující 10 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 2 mg kyseliny p-hydroxybenzoové a 50 mg bezvodé laktózy,
 formulace 4: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace E⁻: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 10 mg methylesteru kyseliny p-hydroxybenzoové a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace F⁻: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 10 mg 3-methyl-4-chlorfenolu a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace G⁻: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 10 mg kyseliny o-hydroxybenzoové a 250 mg bezvodé laktózy,
 formulace H⁻: lyofilizační lahvička obsahující 50 mg hydrochloridu 4'-epi-doxorubicinu, 10 mg kyseliny p-hydroxybenzoové a 250 mg bezvodé laktózy.

Výsledky uvedené tabelární formou ukazují zřetelný účinek kosolubilizačního činidla za zkrácení doby rekonstituce. Prakticky instantní charakter rekonstituce nových formulací pomáhá odstranit rizika, jakými jsou ztráty, ke kterým by mohlo docházet během prodlouženého třepání.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob výroby lyofilizovaného přípravku obsahujícího anthracyklinový glykosid, se zlepšenou rozpustností v injekčních roztocích, kde lyofilizovaný přípravek obsahuje

- I) anthracyklinový glykosid zvolený ze souboru zahrnujícího doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-doxorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin nebo jejich farmaceuticky vhodné soli,
 - II) kosolubilizační činidlo, kterým je kyselina o-hydroxybenzoová nebo kyselina p-hydroxybenzoová nebo jejich alkylester s 1 až 4 atomy uhlíku, 3-methyl-4-chlorfenol, 3, 5-dimethyl-4-chlorfenol, glycin, cystein, fenylalanin, prolin nebo kombinace dvou nebo většího počtu uvedených sloučenin a
 - III) inertní přísadu,
- přičemž poměr mezi anthracyklinovým glykosidem a kosolubilizačním činidlem je 10 dílů glykosidu an 0,1 až 10 dílů kosolubilizačního činidla, vyznačující se tím, že se
- a) do roztoku kosolubilizačního činidla ve vodě pro injekce za míchání po sobě přidá anthracyklinový glykosid nebo jeho sůl a inertní přísada,
 - b) popřípadě se přidá další voda pro injekce, k dosažení požadovaného konečného objemu roztoku,
 - c) roztok se za sterilních podmínek vyčeří a filtruje,
 - d) roztok se vymrazí za teploty mezi -40 až -50 °C během 4 až 5 hodin a
 - e) lyofilizát se suší při konečné teplotě mezi 40 a 50 °C po dobu 6 až 7 hodin.