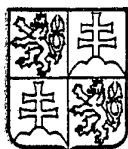


ČESKÁ
A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ
ÚŘAD PRO
VYNÁLEZY

- (21) Číslo přihlášky: **4708-86**
(22) Přihlášeno: 25. 06. 86
(30) Právo přednosti:
02. 08. 85 GB 85/19452
(40) Zveřejněno: 18. 11. 92
(47) Uděleno: 31. 12. 92
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 17. 03. 93

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁵:
A 61 K 31/735

(73) Majitel patentu:
FARMITALIA Carlo Erba S.r.l., Milano, IT;

(72) Původce vynálezu:
Gatti Gaetano, Sesto San Giovanni, IT;
Oldani Diego, Robecco sul Naviglio, IT;
Bottoni Giuseppe, Bergamo, IT;
Confalonieri Carlo, Cusano Milanino, IT;
Gambini Luciano, Cornaredo, IT;
De Ponti Roberto, Milano, IT;

(54) Název vynálezu:
**Injektovatelný, sterilní, apyrogenní
roztok antracyklinového glykosidu a
způsob jeho výroby**

(57) Anotace:
Injektovatelný, sterilní, apyrogenní roztok anthracyklinového glykosidu k okamžitému použití na bázi nelyofilizované fyziologicky snesitelné soli anthracyklinového glykosidu rozpuštěné ve fyziologicky snesitelném vodném rozpouštědle při koncentraci anthracyklinového glykosidu od 0,1 do 50 mg/ml sestává z nelyofilizované fyziologicky snesitelné soli anthracyklinového glykosidu vybraného ze skupiny zahrnující doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-4'-jodo-doxorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin s anorganickou kyselinou rozpuštěné ve vodném rozpouštědle vybraném ze skupiny zahrnující vodu, fyziologický salinický roztok, směs vody a alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující C₄₋₅-alifatický amid, C₂₋₇-alkohol, glykol, polyglykol a pyrrolidinový derivát jako je 2-pyrrolidon, N-methyl-2-pyrrolidon nebo polyvinylpyrrolidon, a vodu obsahující dextrozu jako činidlo pro úpravu osmolality. Přípravuje se tak, že se shora uvedená nelyofilizovaná fyziologicky snesitelná sůl anthracyklinového glykosidu rozpustí ve shora uvedeném vodném rozpouštědle, a před zfiltrováním se upraví hodnota pH roztoku na 2,5 až 5,0 fyziologicky snesitelnou anorganickou nebo organickou kyselinou.

Tento vynález se týká způsobu přípravy stabilního intravenózně injektovatelného roztoku k okamžitému použití protinádorového antracyklinového glykosidu, např. doxorubicinu, jeho přípravy v zatavené nádobě a způsobu léčení nádorů použitím uvedeného roztoku k okamžitému použití.

Antracyklinové glykosidy jsou dobře známou třídou sloučenin protinotvarové skupiny činidel, v níž doxorubicin je typickým a nejrozšířenějším používaným reprezentantem. Doxorubicin. *Anticancer Antibiotics*, Federico Arcamone, 1981, publ.: Academic Press, New York, N.Y., USA; *Adriamycin Review*, EROTC International Symposium, Brusel, květen 1974, ed. M. Staquet, publ.: Press Medikon, Ghent, Belgie; *Results of Adriamycin Therapy*, Adriamycin Symposium at Frankfurt/Main, 1974, ed. M. Ghione, J. Fetzner a H. Maier, publ.: Springer, New York, N.Y., USA. V dnešní době antracyklinové glykosidy jako protinádorová léčiva, zvláště např. doxorubicin, jsou výhradně dostupny ve formě lyofilizovaných prostředků, které se před podáním nemusí připravovat.

Jak při výrobě tak při vlastní rekonstituci takových prostředků je příslušný personál (dělníci, farmaceuti, lékařský personál, sestřičky) vystaven riziku zamoření, které je zvláště vážné vzhledem k toxicitě protinádorových látek.

Ve 28. vydání *Martindale Extra Pharmacopoeia*, strana 175, levý sloupec, jsou popsány nepříznivé účinky protinotvarových léčiv. Je tam rovněž doporučení, že "Musí se s nimi zacházet s velikou péčí, je třeba se vyhnout kontaktu takových látek s kůží a s očima. Tyto látky by se neměly vdechovat. Musí se dbát na to, aby nedošlo k výronu, neboť může dojít k bolesti a poškození tkáně".

Podobně ve *Scand. J. Work Environ Health*, díl 10(2), na stranách 71 až 74 (1984) a také v článcích v *Chemistry Industry* ze 4. července 1983, str. 488 a *Drug-Topics-Medical-Economics-Co.* ze 7. února 1983, str. 99, jsou popsány silné nepříznivé účinky pozorované u lékařského personálu, který byl vystaven používání cytostatických činidel, včetně doxorubicinu.

Při podávání lyofilizovaného prostředku je třeba, aby s léčivem byly provedeny dvě operace. Nejprve se musí rekonstituovat lyofilizovaný koláč, pak dojde k podávání. V některých případech je pro úplné rozpuštění prášku potřeba prodloužení třepání kvůli rozpustnosti.

Jelikož by se riziko, které je spojeno s výrobou a rekonstitucí lyofilizovaného prášku, velice snížilo, pokud by byl dostupný lék v roztoku k okamžitému použití, autoři tohoto vynálezu vyvinuli stabilní, terapeuticky přijatelný intravenózně injektovatelný roztok léku s antracyklinovým glykosidem, např. doxorubicinem, jehož příprava a podávání nevyžadují lyofilizaci ani rekonstituci.

Podle tohoto vynálezu se získá sterilní, apyrogenní roztok s antracyklinovým glykosidem, který sestává z fyziologicky snesitelné soli antracyklinového glykosidu vybraného ze skupiny zahrnující doxorubicin, 4'-epidoxorubicin, 4'-desoxy-4'-jodo-doxo-

rubicin, daunorubicin a 4-demethoxydaunorubicin s anorganickou kyselinou rozpuštěné ve vodném rozpouštědle vybraném ze skupiny zahrnující vodu, fyziologický salinický roztok, směs vody a alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující C₄-5-alifatický amid, C₂-7-alkohol, glykol, polyglykol a pyrrolidonový derivát jako je 2-pyrrolidon, N-methyl-2-pyrrolidon nebo polyvinylpyrrolidon, a vodu obsahující dextozu jako činidlo pro úpravu osmolality a pH roztoku je nastaveno na rozmezí 2,5 až 5,0 fyziologicky snesitelnou anorganickou kyselinou nebo fyziologicky snesitelnou organickou kyselinou.

Roztok podle vynálezu se s výhodou připravuje v zatavené nádobě.

Zvláště výhodným anthracyklinovým glykosidem je doxorubicin.

Pro přípravu roztoku podle vynálezu se může použít jakákoliv fyziologicky snesitelná sůl anthracyklinového glykosidu. Příklady vhodných solí jsou například soli s minerálními anorganickými kyselinami, jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina dusičná a podobné kyseliny, a soli s jistými organickými kyselinami, jako je například kyselina octová, jantarová, vinná, askorbová, citronová, glutamová, benzoová, methansulfonová, ethansulfonová a podobné kyseliny. Zvláště výhodná je sůl s kyselinou chlorovodíkovou, zvláště tehdy, jestliže antracyklinový glykosid znamená doxorubicin.

Používat se může jakékoliv fyziologicky přijatelné rozpouštědlo, které je schopno rozpustit sůl antracyklinového glykosidu. Roztok podle vynálezu může obsahovat také jednu nebo více složek, jako je například další rozpouštěcí činidlo (které může být shodné s rozpouštědlem), činidlo, které upravuje napětí (tonus) a konservační činidlo. Příklady rozpouštědel, dalších rozpouštěcích činidel, činidel, která upravují napětí, a konservačních činidel, která lze používat pro přípravu roztoků antracyklinových glykosidů podle vynálezu, jsou uvedeny níže.

Vhodnými rozpouštědly a dalšími rozpouštěcími činidly jsou například voda, fyziologický solný roztok, alifatické amidy, např. N,N-dimethylacetamid, N-hydroxy-2-ethyl-laktamid, a podobné sloučeniny, alkoholy, například ethanol, benzylalkohol a podobné alkoholy, glykoly a polyalkoholy, např. propylenglykol, glycerin a podobné, estery polyalkoholů, např. diacetin, triacetin a podobné, polyglykoly a polyethery, například polyethylenglykol 400, methylethery propylenglykolu a podobné, dioxolany, např. isopropylidenglycerin a podobné, dimethylisosorbid, pyrrolidonové deriváty, např. 2-pyrrolidon, N-methyl-2-pyrrolidon, polyvinylpyrrolidon (pouze další rozpouštěcí činidlo) a podobné, polyoxyethylenované mastné alkoholy, např. Brij^R a podobné, estery polyoxyethylenovaných mastných kyselin, např. Cremophor^R, Myrj^R a podobné, polysorbáty, např. Tweeny^R, polyoxyethylenované deriváty polypropylenglykolů, např. Pluronic^R. Zvláště výhodným rozpouštěcím činidlem je polyvinylpyrrolidon.

Vhodnými činidly, která upravují napětí, mohou být například fyziologicky přijatelné anorganické chloridy, např. chlorid sodný, dextrosa, laktosa, manitol a podobné sloučeniny.

Jako konservační činidla, která se mohou používat pro fyziologická podávání, jsou vhodná například následující činidla: estery para-hydroxybenzoové kyseliny (např. methyl-, ethyl-, propyl- a butyl-estery nebo jejich směsi), chlorkresol a podobné sloučeniny.

Shora uvedená rozpouštědla, další rozpouštěcí činidla, činidla, která upravují napětí, a konservační činidla se mohou používat samotná nebo jako směsi dvou či více těchto složek.

Příklady výhodných rozpouštědel jsou voda, ethanol, polyethylenglykol a dimethylacetamid a také jejich směsi o různých poměrech těchto rozpouštědel. Zvláště výhodným rozpouštědlem je voda.

Pro úpravu pH na rozmezí od 2,5 do 5,0 se může, podle potřeby, přidat fyziologicky přijatelná kyselina. Touto kyselinou může být jakákoliv fyziologicky přijatelná kyselina, např. anorganická minerální kyselina, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina dusičná a podobné kyseliny, nebo organická kyselina, jako je kyselina octová, jantarová, vinná, askorbová, citronová, glutamová, benzoová, methansulfonová, ethansulfonová a podobné kyseliny nebo také kyselý fyziologicky přijatelný pufr, např. chloridový pufr, acetátový pufr, fosforečnanový pufr a podobné.

Pro úpravu na pH v rozmezí od 5 do 5,5 není obvykle nutné přidávat kyselinu, ale stačí pouze fyziologicky přijatelný roztok pufru, například jeden ze shora uvedených pufrů, jak je potřeba. Pro úpravu pH na hodnotu od asi 5,5 do 6,5 je potřeba přidat fyziologicky přijatelné alkalizační činidlo, jako je například hydroxid sodný, mono-, di- nebo triethanolamin nebo podobná činidla a nebo s výhodou roztok pufru, jako je například fosforečnanový pufr, TRIS pufr apod.

Pro roztok k okamžitému použití podle vynálezu je výhodné pH od 2,5 do 5,5, zvláště pH od asi 3 do asi 5,2. Zvláště výhodná jsou pH asi 3 a asi 5.

Koncentrace antracyklinového glykosidu se v roztocích podle vynálezu může pohybovat v širokém rozmezí, s výhodou od 0,1 mg/ml do 100 mg/ml, zvláště od 0,1 mg/ml do 50 mg/ml, nejvýhodněji od 1 mg/ml do 20 mg/ml.

Výhodná rozmezí koncentrací se mohou pro různé antracyklinové deriváty nepatrně lišit. Tak například výhodnými koncentracemi pro doxorubicin jsou koncentrace v rozmezí od asi 2 mg/ml do asi 50 mg/ml, výhodněji od 2 mg/ml do 20 mg/ml, nejvýhodněji 2 mg/ml a 5 mg/ml. Podobné koncentrace jsou výhodné také pro 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-doxorubicin a 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicin. Výhodnými rozmezími koncentrací pro daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin jsou 0,1 mg/ml až 50 mg/ml, výhodněji

1 mg/ml až 20 mg/ml, zvláště výhodné jsou koncentrace 1 mg/ml a 5 mg/ml.

Jako vhodná balení roztoků antracyklinových glykosidů mohou sloužit všechny schválené obaly pro parenterální používání, jako jsou například obaly z umělých hmot a ze skla, injekční stříkačky k okamžitému použití apod. Výhodným obalem je zatavený skleněný obal, např. fiola nebo ampule.

Zvláště výhodným rysem vynálezu je získání sterilního, bezpyrogenového doxorubicinového roztoku, který sestává v podstatě z fyziologicky přijatelné soli doxorubicinu rozpouštěné ve fyziologicky přijatelném rozpouštědle, která nebyla rekonstituována z lyofilizátu, s pH od asi 2,5 do 6,5.

Ve shora uvedeném výhodném rysu tohoto vynálezu může být fyziologicky přijatelnou solí doxorubicinu například sůl s minerální anorganickou kyselinou, jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina dusičná apod., nebo sůl s organickou kyselinou, jako je například kyselina octová, jantarová, vinná, askorbová, citronová, glutamová, benzoová, methansulfonová, ethansulfonová apod. Zvláště výhodnou solí je hydrochlorid.

V roztoku shora zde uvedeném pod výhodným rysem tohoto vynálezu se jako vhodná rozpouštědla, další rozpouštěcí činidla, činidla upravující napětí a conservační činidla mohou používat tatáž rozpouštědla a činidla, která v tomto spisu již byla uvedena. Zvláště výhodným rozpouštědlem je voda.

Také fyziologicky přijatelná kyselina, která se může použít pro upravení pH na hodnotu v rozmezí od 2,5 do asi 5, jestliže je to žádoucí, a alkalizující činidlo, které se může použít pro upravení pH na hodnotu v rozmezí od asi 5,5 do 6,5, jestliže je to žádoucí, může být kterákoliv kyselina nebo kterékoliv alkalizující činidlo shora v tomto spisu uvedené. Jestliže je žádoucí upravit pH shora uvedeného výhodného roztoku na pH 2,5 až asi 5, zvláště výhodné je použít kyselinu chlorovodíkovou. Hodnoty pH shora uvedených výhodných roztoků podle vynálezu jsou od 2,5 do 5,5, výhodnější jsou hodnoty od asi 3 do asi 5,2, nejvýhodnější jsou hodnoty 3 a 5.

I když se koncentrace doxorubicinu ve shora uvedeném výhodném uspořádání může pohybovat v širokém rozmezí od 0,1 mg/ml do 100 mg/ml, výhodné jsou koncentrace od 2 mg/ml do 50 mg/ml, nejvýhodnější od 2 mg/ml do 20 mg/ml: příklady zvláště výhodných koncentrací doxorubicinu jsou 2 mg/ml a 5 mg/ml.

Tento vynález zajišťuje také způsob výroby sterilního, bezpyrogenového roztoku antracyklinového glykosidu o pH od 2,5 do 6,5. Tento způsob se vyznačuje tím, že fyziologicky přijatelná sůl antracyklinového glykosidu se rozpustí (tato sůl není ve formě lyofilizátu) ve fyziologicky přijatelném rozpouštědle. Popřípadě se přidá fyziologicky přijatelná kyselina nebo pufr pro úpravu na žádanou pH hodnotu. Tento roztok se nechá projít sterilizačním filtrem. Před tím se může k roztoku přidat jedna nebo více složek, jako jsou například další rozpouštěcí činidla,

činidla upravující napětí a konzervační činidla, jejichž příklady jsou uvedeny výše.

S roztoky podle vynálezu je možné získat prostředky s velmi vysokou koncentrací aktivní složky, tj. sloučeniny antracyklinového glykosidu, dokonce 50 mg/ml a více. To představuje obrovskou výhodu před dnes dostupnými lyofilizovanými preparáty, u nichž lze vysokých koncentrací antracyklinového glykosidu dosáhnout jen s obtížemi, hlavně kvůli problémům rozpustnosti při přípravě, především solného roztoku. Přítomnost excipientu, např. laktosy, v lyofilizovaném koláči, a jako obvykle vysoký podíl vzhledem ke sloučenině, až 5 dílů excipientu na díl účinné sloučeniny, má negativní vliv na rozpustnost. Tím může dojít k těžkostem při rozpouštění lyofilizovaného koláče, zvláště při takových koncentracích antracyklinového glykosidu, které převyšují 2 mg/ml.

Roztoky podle vynálezu se vyznačují dobrou stabilitou. Bylo zjištěno, že roztoky v různých rozpouštědlech o různých pH a různých koncentracích jsou stále po dlouhá období při teplotách, které jsou přijatelné pro skladování farmaceutických prostředků. Tento fakt je ilustrován níže na příkladech.

Díky dobře známé protinádorové účinnosti aktivního antracyklinového glykosidu v léčivu jsou farmaceutické prostředky podle vynálezu užitečné pro léčení nádorů jak v lidských tak i ve zvířecích hostitelích. Příklady nádorů, které mohou být léčeny, jsou například sarkomy, včetně kostrotvorných sarkomů a sarkomů některých tkání, karcinomy, např. prsu, plic, měchýře, štítné žlázy, prostaty a vaječníků, lymfomy, včetně Hodgkinových a ne-Hodgkinových lymfomů, neuroblastomy, melanomy, myelomy, Wilmsův nádor a leukemie, včetně akutní lymfoblastové leukemie a akutní myeloblastové leukemie. Příklady specifických nádorů, které mohou být léčeny, jsou Moloney Sarcoma Virus, Sarcoma 180 Ascites, pevný Sarcoma 180, velká transplantovatelná leukemie, leukemie L 1210 a lymfotická P 388 leukemie.

Podle vynálezu je tedy získán způsob inhibice růstu nádoru, zvláště jednoho ze shora uvedených nádorů, vyznačující se tím, že se hostiteli, který trpí uvedeným nádorem, podává injektovatelný roztok podle vynálezu, který obsahuje léčivo s účinnou sloučeninou v množství postačujícím pro inhibici růstu uvedeného nádoru.

Injektovatelné roztoky podle vynálezu se podávají rychlou intravenosní injekcí nebo infusí podle různých dávkových schémat. Vhodným dávkovým schématem pro doxorubicin může být například 60 až 75 mg účinné sloučeniny v léčivu na m^2 povrchu těla jako jediná rychlá infuze s opakováním po 21 dnu. Alternativním schématem může být 30 mg/m^2 /den intravenosní cestou po 3 dny, každých 28 dnů. Vhodnými dávkami u 4'-epi-doxorubicinu a 4'-desoxy-doxorubicinu může být 75 až 90 mg/m^2 podaných v jediné infusi s opakováním po 21 dnu. Podobné dávkování lze použít i pro 4'-desoxy-4'-jodoxorubicin. Idarubicin, tj. 4-demethoxy-daunorubicin, se může, např., podávat intravenosně v jediné dávce 13 až 15 mg/m^2 každých 21 dnů při léčení pevných nádorů, zatímco při

léčení leukemií je výhodným dávkovým schématem např. 10 až 12 mg/m² denně intravenosně po 3 dny s opakováním každých 15 až 21 dnů: podobné dávkování je použitelné také pro daunorubicin.

Následující příklady ilustrují, ale neomezují žádným způsobem tento vynález.

Kontroly stability vzorků k okamžitému použití v příkladech se provádějí vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) za následujících experimentálních podmínek:

kapalinový chromatograf: model Varian 5010

spektrofotometrický detektor: model Knauer 8700

integrační zapisovač: model CDS 401

injekční ventil: model Rheodyne 7125 opatřený smyčkou na 100 µl vzorku

chromatografická kolona: Waters µ-Bondpak C18 (délka 300 mm, vnitřní průměr 3,9 mm, průměrná velikost částic 10 µm)

teplota kolony: teplota místnosti (asi 22 ± 2 °C)

mobilní fáze: směs vody s acetonitrilem (v poměru 69 : 31 objemovým dílům), kyselinou fosforečnou upraveno pH na 2, zfiltrováno (sintrem) a odvzdušněno (byl použit sintř o velikosti porů 10 µm nebo jemnější)

průtok mobilní fáze: 1,5 ml/min

vlnová délka (při analytickém stanovení): 254 ± 1 nm

citlivost integračního zapisovače: 512

rychlost posuvu papíru v zapisovači: 1 cm/min.

Za těchto podmínek mělo maximum antracyklinového glykosidu retenční dobu asi 6 minut. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce, která doprovází příklady. Extrapolace analytických dat pro určení doby, kdy dojde k 90 % původní účinnosti, se provede pomocí Arrheniova diagramu. Tento postup zpracování analytických dat je dobře znám a široce rozšířen v odborné literatuře, viz například: Chemical Stability of Pharmaceuticals, Kenneth A. Connors, Gordon L., Amidon, Lloyd Kennon, publ. John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1979.

Termín teflon znamená ve spise produkt "TeflonTM".

Na připojených výkresech, kde E+3 znamená $\times 10^3$ představuje:
 Obr. 1 znamená průběh K_{obs} - pH degradace doxorubicinu.HCl při 55 °C ve sterilní vodě (příklad 15);
 obr. 2 představuje průběh K_{obs} -pH degradace doxorubicinu.HCl při 55 °C v 5% dextroze (příklad 15) a
 obr. 3 představuje průběh K_{obs} - pH degradace doxorubicinu.HCl při 55 °C v 0,9% fyziologickém salinickém roztoku (příklad 15).

Příklad 1

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,8 g	(10 mg)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,80 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Hodnota pH roztoku se neupravuje. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce, čímž se dosáhne konečného objemu (0,40 l).

Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných viol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutylteflonem a zataví hliníkovými čepičkami.

Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené konstanty stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 a 35 °C) a 12 týdnů (4 °C).

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 1:

Tabulka 1

původní hodnoty:

koncentrace: 1,994 mg/ml pH = 5,2

relativní procento účinnosti: 100,0

čas (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1	1,992	99,9	1,917	96,1	1,768	88,7	1,493	75,0
2			1,843	92,4	1,618	81,1	1,166	58,5
3			1,774	89,0	1,506	75,5	0,830	41,6
4	1,974	99,0	1,720	86,3	1,393	69,9		
8								
12	1,980	99,3						

t_{90} (dny) extrapolovány podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 815 dnů

t_{90} při 8 °C = 480 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak 5 mg/ml.

Příklad 2

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,8 g	(10 mg)
0,1 N kyselina chlorovodíková		
	q.s. do pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,8 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláváním dusíkem. Pak se přikape kyselina chlorovodíková a to tolik, aby se pH roztoku upravilo na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby její celkový konečný objem byl 0,4 l.

Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroprocesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovou zátkou obalenou chlorbutylteflonem a zataví hliníkovými čepičkami.

Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), čtyř týdnů (45 °C a 35 °C) a 12 týdnů (4 °C).

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 2:

Tabulka 2

koncentrace: 1,992 mg/ml pH = 3,0
relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1	1,9995	100,2	1,952	98,0	1,919	96,3	1,493	75,0
2			1,889	94,8	1,851	92,9	1,036	51,9
3			1,876	94,2	1,565	78,6	0,730	36,7
4	1,979	99,4	1,808	90,8	1,393	69,9		
8								
12	1,972	99,0						

t₉₀ (dnů extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t₉₀ při 4 °C = 3970 dnů

t₉₀ při 8 °C = 2000 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak i 5 mg/ml.

Příklad 3

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	8,0 g	(100 mg)
kyselina chlorovodíková		
(0,1N) q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (8,0 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Pak se přikape kyselina chlorovodíková, aby se pH roztoku upravilo na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby její celkový objem byl 0,4 l.

Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovou zátkou obalenou chlorbutylteflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů, (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 12 týdnů (4 °C).

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 3:

Tabulka 3

původní hodnoty:

koncentrace: 20,06 mg/ml pH = 2,95

relativní procento účinnosti: 100,0

doba (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1	20,06	100,0	19,56	97,5	17,84	88,9	12,31	61,4
2			18,87	94,1	15,61	77,8	7,09	35,3
3			18,24	90,9	13,41	66,8	3,13	15,6
4	19,91	99,2	17,51	87,3	11,07	55,2		
8								
12	19,80	98,7						

t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 3700 dnů

t_{90} při 8 °C = 1780 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu nebo 4'-desoxy-doxorubicinu v koncentraci 20 mg/ml.

Příklad 4

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,80 g	(10,0 mg)
polyvinylpyrrolidon	20,00 g	(250,0 mg)
voda pro injekce q.s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,80 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. pH roztoku se neupravuje. Přidá se polyvinylpyrrolidon a vše se za míchání probublávání dusíkem rozpustí. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby její celkový konečný objem byl 0,40 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ m mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutylteflonem a zataví hliníkovými čepičkami.

Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C).

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 4:

Tabulka 4

původní hodnoty:

koncentrace: 986 mg/ml pH = 4,6

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1	1,984	99,9	1,928	97,1	1,797	90,5	1,605	80,8
2			1,847	93,0	1,616	81,4	1,293	65,1
3			1,828	92,0	1,527	76,9	1,018	51,3
4	1,928	97,1	1,797	90,5	1,403	70,7		
8	1,989	100,1						

t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 1460 dnů

t_{90} při 8 °C = 835 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak 5 mg/ml.

Příklad 5

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,800 g	(10,00 mg)
N,N-dimethylacetamid	0,060 l	(0,65 ml)
propylenglykol	0,048 l	(0,60 ml)
ethanol	0,012 l	(0,15 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,400 l	(5,00 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,800 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Postupně se přidá N,N-dimethylacetamid, propylenglykol a ethanol za míchání a probublávání dusíkem. Potom se přikape tolik kyseliny chlorovodíkové, aby se pH roztoku upravilo na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby její celkový objem byl 0,400 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutylteflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené konstanty stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 5:

Tabulka 5

původní hodnoty:

koncentrace: 2,000 mg/ml

pH = 3,03

relativní % účinnosti: 100,0

doba (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1			1,892	94,6	1,735	86,7	1,495	74,7
2	1,993	99,7	1,927	96,4	1,624	81,2	1,212	60,6
3			1,908	95,4	1,432	71,6	1,032	51,6
4	2,000	100,0	1,863	93,2	1,266	63,3		
8	1,960	98,0						

t₉₀ (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:t₉₀ při 4 °C = 4360 dnůt₉₀ při 8 °C = 2200 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak 5 mg/ml.

Příklad 6

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,8 g	(10,0 mg)
polyvinylpyrrolidon	20,0 g	(250,0 mg)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,8 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Přidá se polyvinylpyrrolidon a vše se rozpustí za míchání a probublávání dusíkem. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pak pH roztoku upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby její celkový konečný objem byl 0,4 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalovými chlorbutylteflonem a zataví se hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 6:

Tabulka 6

původní hodnoty:

koncentrace: 1,973 mg/ml pH = 2,71

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1	2,028	102,8	1,944	98,5	1,791	90,8	1,477	74,9
2			1,885	95,5	1,582	80,2	0,972	49,3
3			1,840	93,2	1,402	71,0	0,632	32,0
4	1,913	97,0	1,853	93,9	1,273	64,5		
8	1,972	99,9						

t₉₀ (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:t₉₀ při 4 °C = 5560 dnůt₉₀ při 8 °C = 2670 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak i 5 mg/ml.

Příklad 7

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	8,00 g	(100,0 mg)
N,N-dimethylacetamid	0,12 l	(1,5 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q. s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (8,00 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá N,N-dimethylacetamid. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,40 l.

Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkový i čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 7:

Tabulka 7

původní hodnoty:

koncentrace: 19,32 mg/ml pH = 2,96

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1	20,01	103,5	19,14	99,1	17,34	89,8	15,57	80,6
2			19,20	99,4	15,77	81,6	12,94	67,0
3			18,06	93,5	14,85	76,9	11,61	60,1
4	20,03	103,7	17,81	92,2	13,78	71,3		
8	19,99	103,5						

t₉₀ (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t₉₀ při 4 °C = 1310 dnů

t₉₀ při 8 °C = 770 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují 4'-epi-doxorubicin jako hydrochlorid nebo hydrochlorid 4'-desoxy-doxorubicinu v koncentracích 20 mg/ml.

Příklad 8

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,80 g	(10,0 mg)
ethanol	0,12 l	(1,5 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,80 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá ethanol. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,40 l.

Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené konstanty stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 12 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 8:

Tabulka 8

původní hodnoty:

koncentrace: 1,979 mg/ml pH = 3,11

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1	2,010	101,6	1,965	99,3	1,974	98,4	1,750	88,4
2			1,957	98,9	1,910	96,5	1,645	83,1
3			1,895	95,8	1,737	87,8	1,356	68,5
4	1,927	97,3	1,818	91,9	1,678	84,8		
12	1,939	97,9						

t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 1270 dnů

t_{90} při 8 °C = 780 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak 5 mg/ml.

Příklad 9

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	8,000 g	(100,00 mg)
N,N-dimethylacetamid	0,060 l	(0,75 ml)
propylenglykol	0,048 l	(0,60 ml)
ethanol	0,012 l	(0,15 ml)
kyselina chlorovodíková (0,1N) q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,400 l	(5,00 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (8,000 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá N,N-dimethylacetamid, propylen-glykol a ethanol. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,400 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ m mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené teploty stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (35 °C a 45 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 9:

Tabulka 9

původní hodnoty:

koncentrace: 20,07 mg/ml pH = 2,99

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1			19,14	95,4	17,81	88,7	14,84	73,9
2	19,97	99,5	19,07	95,0	16,27	81,1	12,36	61,6
3			18,08	90,1	14,62	72,9	10,04	50,0
4	20,06	99,9	18,03	89,8	13,20	65,8		
8	19,69	98,1						

 t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice: t_{90} při 4 °C = 846 dnů t_{90} při 8 °C = 505 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, obsahující hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu nebo 4'-desoxy-doxorubicinu v koncentracích 20 mg/ml.

Příklad 10

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	8,0 g	(100,0 mg)
polyvinylpyrrolidon	20,0 g	(250 mg)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (8,0 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá polyvinylpyrrolidon. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový objem roztoku byl 0,4 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ m mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a pak se zataví hliníkovými čepičkami.

Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 10:

Tabulka 10

původní hodnoty:

koncentrace: 19,57 mg/ml pH = 2,62

relativní procento účinnosti: 100,0

doba (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel. % účin.	konc. mg/ml	rel. % účin.	konc. mg/ml	rel. % účin.	konc. mg/ml	rel. % účin.
1	19,54	99,9	19,11	97,6	16,88	86,2	12,48	63,8
2			18,43	94,2	14,13	72,2	6,00	30,7
3			18,02	92,1	11,57	59,1	2,61	13,3
4	19,58	100,0	17,36	88,7	9,23	47,2		
8	19,35	98,8						

t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 2540 dnů

t_{90} při 8 °C = 1290 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu nebo 4'-desoxy-doxorubicinu v koncentracích 20 mg/ml.

Příklad 11

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,80 g	(10,0 mg)
N,N-dimethylacetamid	0,12 l	(1,5 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,80 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá N,N-dimethylacetamid. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,40 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 8 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 11:

Tabulka 11

původní hodnoty:

koncentrace: 1,826 mg/ml pH = 3,14

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1	1,830	100,2	1,812	99,2	1,784	97,7	1,605	87,9
2	1,818	99,6	1,781	97,5	1,554	85,1	1,292	70,8
3			1,743	95,4	1,409	77,2	1,018	55,7
4	1,823	99,8	1,743	95,0	1,369	75,0		
8	1,792	98,2						

t₉₀ (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:t₉₀ při 4 °C = 5815 dnůt₉₀ při 8 °C = 2920 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak i 5 mg/ml.

Příklad 12

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,80 g	(10,0 mg)
propylenglykol	0,12 l	(1,5 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,80 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a tento roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá propylenglykol. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,40 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ m mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví se hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 4 týdnů (4 °C). Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 12:

Tabulka 12

původní hodnoty:

koncentrace: 1,982 mg/ml pH = 3,11

relativní procento účinnosti: 100,0

dobu (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.	konc. mg/ml	rel.% účin.
1	1,972	99,5	1,934	97,6	1,889	95,3	1,705	86,0
2			1,952	98,5	1,795	90,6	1,483	74,8
3			1,935	97,6	1,699	85,7	1,153	58,2
4	2,056	103,7	1,788	90,2	1,460	73,7		

 t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice: t_{90} při 4 °C = 1794 dnů t_{90} při 8 °C = 1025 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak i 5 mg/ml.

Příklad 13

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,80 g	(10,0 mg)
polyethylenglykol 400	0,12 l	(1,5 ml)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,40 l	(5,0 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu /0,80 g/ se rozpustí v 90 % vody pro injekce a roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Za míchání a probublávání dusíkem se přidá polyethylenglykol 400. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby konečný objem roztoku byl 0,40 l. Tento roztok se zfiltruje 0,22 µm mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkovými čepičkami. Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 55 °C, 45 °C a 35 °C (urychlené kontroly stability) a při teplotě 4 °C po dobu až 3 týdnů (55 °C), 4 týdnů (45 °C a 35 °C) a 4 týdnů (4 °C).

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 13:

Tabulka 13

původní hodnoty:

koncentrace: 1,907 mg/ml pH = 3,07

relativní procento účinnosti: 100,0

doba (týdny)	teplota							
	4 °C		35 °C		45 °C		55 °C	
	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.	konc. mg/ml	rel.% účín.
1	1,871	98,1	1,797	94,2	1,668	87,5	1,484	77,8
2			1,710	89,7	1,608	84,3	1,237	64,9
3			1,739	91,2	1,551	81,3	1,007	52,8
4	1,873	98,2	1,693	88,8	1,453	76,2		

t_{90} (dnů) extrapolováno podle Arrheniovy rovnice:

t_{90} při 4 °C = 1130 dnů

t_{90} při 8 °C = 680 dnů

Podobná data stability lze pozorovat také pro analogické roztoky, které obsahují buď hydrochlorid doxorubicinu v koncentraci 5 mg/ml nebo hydrochloridy 4'-epi-doxorubicinu, 4'-desoxy-doxorubicinu, 4'-desoxy-4'-jod-doxorubicinu, daunorubicinu nebo 4-demethoxy-daunorubicinu v koncentracích jak 2 mg/ml tak 5 mg/ml.

Příklad 14

složení:	pro 80 fiol	(pro 1 fiolu)
hydrochlorid doxorubicinu	0,8 g	(10 mg)
0,1N kyselina chlorovodíková		
q.s. do	pH = 3	(pH = 3)
voda pro injekce q.s. do	0,4 l	(5 ml)

Hydrochlorid doxorubicinu (0,8 g) se rozpustí v 90 % vody pro injekce a tento roztok se odvzdušní probubláním dusíkem. Přikapáním kyseliny chlorovodíkové se pH upraví na hodnotu 3. Přidá se další odvzdušněná voda pro injekce a to tolik, aby celkový konečný objem roztoku byl 0,4 l.

Tento roztok se zfiltruje 0,22 μ m mikroporesní membránou přetlakem dusíku. Do I-bezbarvých skleněných fiol o kapacitě 5/7 ml se dá po 5 ml roztoku. Fioly se pak uzavřou gumovými zátkami obalenými chlorbutyl-teflonem a zataví hliníkovými čepičkami.

Testuje se stabilita roztoků ve fiolách. Fioly se skladují při teplotách 4 °C a 8 °C po dobu až 6 měsíců.

Data stability získaná vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) při určování účinnosti jsou uvedena v následující tabulce 14:

Tabulka 14

původní hodnoty:

koncentrace: 2,039 mg/ml

pH = 3,06

relativní % obsahu: 100,0

dobu (měsíce)	teplota			
	4 °C		8 °C	
	konc. mg/ml	rel.% obsahu	konc. mg/ml	rel.% obsahu
1	1,983	97,3	1,959	96,1
3	1,984	97,3	1,983	97,3
6	2,012	98,7	2,002	98,2

Za stejných podmínek je možno pozorovat podobná data stability také pro další roztoky, které jsou uvedeny v předchozích příkladech.

Příklad 15

Profil pH-stability při 55 °C pro roztoky doxorubicinu. HCl ve sterilní vodě, 5% dextroze nebo 0,9% salinickém roztoku

Doxorubicin. HCl se rozpustí při koncentraci 2 mg/ml v následujících I = 0,05 pufrech:

- a) glycin. HCl pH 2,0, 2,5 a 3,0,
- b) mravenčan pH 3,5 a
- c) acetát pH 4,0, 5,0 a 5,5.

Každý roztok se filtruje 0,22 µm mikroporézní membránou pod tlakem dusíku. 5,0 ml každého roztoku se umístí při 55 °C do skleněné lahvičky typu I, kapacita lahvičky 8 ml, Teflonem (ochr. známka) potažený chlorbutylový kaučuk - zátka, hliníkový uzávěr. Každý roztok se analyzuje v předem stanoveném čase (až do 120 hodin) na obsah doxorubicinu.HCl a pH. Výsledky jsou uváděny v tabulkách 15, 16 a 17, které uvádějí zbytkovou koncentraci doxorubicinu.HCl a procenta stability při 55 °C a různé hodnoty pH a doby uchovávání pro sterilní vodu, 5% dextrozu a 0,9% salinický roztok.

Obsah doxorubicinu.HCl se stanoví třikrát nezávisle na sobě podle US Pharmacoposia (USP vysoce citlivá kapalinová chromatografie (HPLC) (USP XXI)). Pro každou hodnotu pH byly rychlostní konstanty pseudoprvního řádu (K_{obs}) pro rozklad spočteny lineární regresní analýzou z přirozeného logaritmu zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl ($|DX|_t$) proti době jak je znázorněno následující rovnicí:

$$\ln |DX|_t = \ln |DX|_0 - K_{obs} \cdot t$$

Tabulky 18, 19 a 20 udávají pozorované rychlostní konstanty (K_{obs}) pro kinetiku rozkladu doxorubicinu.HCl při 55 °C a různých hodnotách pH pro sterilní vodu, 5% dextrozu a 0,9% salinický roztok. Obrázky 1, 2 a 3 znázorňují průběh závislosti K_{obs} - pH pro doxorubicin.HCl při rozkladu při 55 °C ve výše uvedených médiích.

Údaje v tabulkách 15 - 20 a obr. 1 - 3 dokládají, že roztok 2 mg/ml doxorubicin.HCl vykazuje při 55 °C dobrou stabilitu při pH 2,5 - 4,0 a maximum stability při pH 3,0 - 3,5 pro všechna tři testovaná media. Obecně je možno shrnout, že pokud se týká stability, nebyly pozorovány prakticky žádné rozdíly u vodných roztoků, ať už se jedná o roztoky obsahující sterilní vodu, nebo roztoky obsahující činidla upravující jejich tonus, buď ionogenií jako je např. chlorid sodný, nebo neionogenní, jako je například dextroza.

Tabulka 15

Akcelerovaná (55 °C) data stability 2 mg/ml roztoku doxorubicinu.HCl ve sterilní vodě při různých pH

Pufry	stanovení	doba (hodiny)						
		0	8	16	24	48	72	120
doxorubicin.HCl								
pH 2,0	. mg/ml	2,022	1,892	1,669	1,554	1,145	0,801	
glycin-HCl	%.stability	100,0	93,6	82,6	76,9	56,6	39,6	
	pH	2,00	2,01	2,02	2,01	2,01	2,02	
doxorubicin.HCl								
pH 2,5	. mg/ml	1,992	1,926	1,835	1,718	1,557	1,000	
glycin-HCl	%.stability	100,0	96,7	92,1	86,2	78,2	50,2	
	pH	2,51	2,50	2,50	2,52	2,51	2,52	

Pokračování tabulky č. 15

		doxorubicin.HCl							
pH 3,0	. mg/ml	2,003	1,958	1,881	1,831	1,696	1,525	1,258	
glycin-	.%stability	100,0	97,8	93,9	91,4	84,7	76,1	62,8	
HCl	pH	3,0	3,03	3,02	3,02	3,01	3,02	3,00	
		doxorubicin.HCl							
pH 3,5	. mg/ml	2,035	1,950	1,887	1,840	1,650	1,538	1,241	
glycin-	.%stability	100,0	95,8	92,7	90,4	81,1	75,6	61,0	
HCl	pH	3,51	3,51	3,51	3,51	3,52	3,52	3,51	
		doxorubicin.HCl							
pH 4,0	. mg/ml	2,032	1,788	1,681	1,561	1,167			
glycin-	.%stability	100,0	88,0	82,7	76,8	57,4			
HCl	pH	4,00	4,00	4,04	4,02	4,02			
		doxorubicin.HCl							
pH 5,0	. mg/ml	2,019	1,823	1,688	1,512	1,060			
acetát	.%stability	100,0	90,3	83,6	74,9	52,5			
	pH	5,03	5,05	5,04	5,05	5,05			
		doxorubicin.HCl							
pH 5,5	. mg/ml	2,047	1,808	1,427	1,228	0,903			
acetát	.%stability	100,0	88,3	69,7	60,0	44,1			
	pH	5,50	5,53	5,53	5,54	5,56			

Tabulka 16 Akcelerovaná (55 °C) data stability roztoku 2 mg/ml doxorubicinu.HCl
v 5% dextroze

		doba (hodiny)								
Pufry	stanovení	0	8	16	24	34	48	72	96	120
doxorubicin.HCl										
pH 2,0	. mg/ml	1,993	1,851	1,683	1,513	1,361	1,078	0,765		
glycin-HCl	. % stability	100,0	92,8	84,4	75,9	68,3	54,1	38,4		
	pH	2,14	2,13	2,14	2,15	2,18	2,21	2,16		
doxorubicin.HCl										
pH 2,5	. mg/ml	1,967	1,897	1,822	1,760	1,682	1,499	1,305		
glycin-HCl	. % stability	100,0	96,4	92,6	89,5	85,5	76,2	66,3		
	pH	2,56	2,56	2,56	2,58	2,60	2,56	2,61		
doxorubicin.HCl										
pH 3,0	. mg/ml	1,975		1,908	1,832		1,645	1,508	1,344	1,206
glycin-HCl	. % stability	100,0		96,6	92,7		83,3	76,4	68,0	61,1
	pH	3,04		3,05	3,05		3,06	3,00	3,13	3,10
doxorubicin.HCl										
pH 3,5	. mg/ml	1,983		1,897	1,858		1,622	1,324	1,222	
mravenčan	. % stability	100,0		95,7	93,7		81,8	66,8	61,6	
	pH	3,58		3,59	3,60		3,63	3,60	3,63	
doxorubicin.HCl										
pH 4,0	. mg/ml	2,003	1,913	1,716	1,665	1,487	1,312	1,081		
acetát	. % stability	100,0	95,5	85,6	83,1	74,2	65,5	53,9		
	pH	4,10	4,10	4,11	4,16	4,16	4,15	4,12		
doxorubicin.HCl										
pH 5,0	. mg/ml	2,012	1,906	1,673	1,608	1,416	1,163			
acetát	. % stability	100,0	94,7	83,2	79,9	70,4	87,8			
	pH	5,06	5,06	5,06	5,06	5,07	5,04			
doxorubicin.HCl										
pH 5,5	. mg/ml	1,991	1,841	1,470	1,246	1,091				
acetát	. % stability	100,0	82,5	73,8	62,6	54,8				
	pH	5,56	5,54	5,48	5,50	5,46				

Tabulka 17 Akcelerovaná (55 °C) data stability roztoku 2 mg/ml daunorubicinu.HCl v 0,9% salinickém roztoku při různých hodnotách pH

		doba (hodiny)									
Pufry	stanovení	0	4	8	16	24	34	48	72	96	102
doxorubicin.HCl											
pH 2,0	mg/ml	1,998		1,857	1,580	1,397	1,231	0,931	0,701		
glycin-	% stability	100,0		92,9	79,1	69,9	61,6	46,6	35,1		
HCl	pH	2,16		2,16	2,18	2,16	2,22	2,20	2,19		
doxorubicin.HCl											
pH 2,5	mg/ml	1,946		1,875	1,670	1,602	1,368	1,132			
glycin-	% stability	100,0		96,3	85,8	82,3	70,3	58,1			
HCl	pH	2,59		2,59	2,59	2,58	2,62	2,62			
doxorubicin.HCl											
pH 3,0	mg/ml	1,994			1,818	1,771		1,571	1,375	1,205	1,003
glycin-	% stability	100,0			91,2	88,9		78,8	69,0	60,4	50,3
HCl	pH	3,06			3,07	3,07		3,08	3,13	3,14	3,12
doxorubicin.HCl											
pH 3,5	mg/ml	1,997			1,824	1,742		1,543	1,323	1,176	8,919
glycin-	% stability	100,0			91,4	87,2		77,3	66,2	58,9	46,0
HCl	pH	3,58			3,56	3,56		3,66	3,61	3,64	3,63
doxorubicin.HCl											
pH 4,0	mg/ml	1,972	1,885	1,828	1,653	1,594					
acetát	% stability	100,0	95,6	92,7	83,8	80,8					
	pH	4,10	4,10	4,10	4,10	4,11					
doxorubicin.HCl											
pH 5,0	mg/ml	1,979		1,732	1,469	1,442	1,278				
acetát	% stability	100,0		87,5	74,2	72,8	64,6				
	pH	5,04		5,06	5,04	5,05	5,05				
doxorubicin.HCl											
pH 5,5	mg/ml	2,023		1,847	1,548	1,330					
acetát	% stability	100,0		91,3	76,5	65,7					
	pH	5,58		5,56	5,55	5,53					

Tabulka 18

Hodnoty K_{Obs} (1/den) pro rozklad roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml ve sterilní vod při různých hodnotách pH při 55 °C

<u>Pufr</u>	<u>pH</u>	<u>$K_{\text{Obs}} \times 10^3$</u>	<u>95% hranice spolehlivosti</u>
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,0	309,5	$\pm 12,7$
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,5	138,3	$\pm 0,6$
.glycin-HCl (I = 0,05)	3,0	93,1	$\pm 4,6$
.mravenčan (I = 0,05)	3,5	96,7	$\pm 4,4$
.acetát (I = 0,05)	4,0	269,8	$\pm 18,7$
.acetát (I = 0,05)	5,0	322,6	$\pm 19,2$
.acetát (I = 0,05)	5,5	415,4	$\pm 45,7$

Tabulka 19

Hodnoty K_{Obs} (1/den) pro rozklad roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v 5% dextroze při různých hodnotách pH při 55 °C

<u>Pufr</u>	<u>pH</u>	<u>$K_{\text{Obs}} \times 10^3$</u>	<u>95% hranice spolehlivosti</u>
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,0	323,8	$\pm 17,2$
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,5	138,7	$\pm 9,9$
.glycin-HCl (I = 0,05)	3,0	100,5	$\pm 5,9$
.mravenčan (I = 0,05)	3,5	132,0	$\pm 20,7$
.acetát (I = 0,05)	4,0	209,7	$\pm 12,7$
.acetát (I = 0,05)	5,0	273,1	$\pm 27,7$
.acetát (I = 0,05)	5,5	453,7	$\pm 59,2$

Tabulka 20

Hodnoty K_{Obs} (1/den) pro rozklad roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v 0,9% salinickém roztoku při různých hodnotách pH při 55 °C

Pufrr	pH	$K_{\text{obs}} \times 10^3$	hranice 95% spolehlivosti
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,0	362,4	$\pm 19,4$
.glycin-HCl (I = 0,05)	2,5	276,5	$\pm 30,2$
.glycin-HCl (I = 0,05)	3,0	133,2	$\pm 8,0$
.mravenčan (I = 0,05)	3,5	148,1	$\pm 11,1$
.acetát (I = 0,05)	4,0	215,7	$\pm 35,4$
.acetát (I = 0,05)	5,0	301,2	$\pm 60,1$
.acetát (I = 0,05)	5,5	430,3	$\pm 59,9$

Příklad 16

Odhad skladovatelnosti ($t_{90\%}$) roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml ve sterilní vodě při hodnotě pH 3,0

Doxorubicin.HCl se rozpustí ve vodě pro injekce v koncentraci 2 mg/ml a pH se upraví na hodnotu 3,0 0,5N kyselinou chlorovodíkovou. Roztok se filtruje 0,22 μm mikroporézní membránou pod tlakem dusíku. 5,0 ml podíly se uchovávají při

- a) 55 °C 21 dní
- b) 45 °C a 35 °C 28 dní a
- c) 27 °C 90 dní

ve skleněných nádobkách typu I, o kapacitě nádoby 8 ml, s chlorbutylkaučukovou zátkou potaženou teflonem a hliníkovým uzávěrem. V předem určeném čase se provede stanovení obsahu doxorubicinu.HCl a pH. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 21.

Logaritmus zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl proti času byl vynesena pro každou serii výsledků. Byl zjištěn lineární poměr ukazující, že degradace léčiva probíhá při konstantním pH a teplotě podle kinetik pseudo-prvního řádu. Zjištěné rychlostní konstanty (K_{obs}) pro degradaci byly vypočteny vždy lineární regresní analýzou vynesením přirozeného logaritmu zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl ($|Dx|_t$) proti času, jak je znázorněno dříve uvedenou rovnicí:

$$\ln |Dx|_t = \ln |Dx|_0 - K_{\text{obs}} \cdot t$$

Arrheniova rovnice pro degradační proces byla vypočtena z K_{obs} získaných z různých teplot uvedených v testech (tabulka 22). Podle této rovnice byly spočítány rychlostní konstanty pro reakce pseudoprvního řádu při 4 °C, 8 °C, 15 °C a 27 °C, spolu s očekávanou skladovatelností ($t_{90\%}$) při těchto teplotách. Odhad $t_{90\%}$ v tabulce 8 ukazuje, že významná životnost může být přisuzována vodnému roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml při pH 3, jestliže je produkt uchováván v chladničce při teplotě mezi 2 °C a 8 °C.

Tabulka 21 Akcelерованá data stability roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml při pH 3,0 ve sterilní vodě při různých časech a teplotách

teplota uchování	stanovení	doba (hodiny)									
		0	4	8	14	21	28	60	90		
27 °C	doxorubicin.HCl	1,992		1,993	1,988	1,962	1,941	1,908	1,850		
	. mg/ml										
	. % stability	100,0		100,1	99,8	98,5	97,4	95,8	92,9		
25 °C	pH	3,00		2,95	2,94	2,95	2,94	2,96	2,93		
	doxorubicin.HCl										
	. mg/ml	1,992	1,985	1,952	1,889	1,876	1,808				
45 °C	. % stability	100,0	99,6	98,0	94,8	94,2	90,8				
	pH	3,00	2,96	2,98	2,93	2,92	2,92				
	doxorubicin.HCl										
55 °C	. mg/ml	1,992	1,919	1,851	1,677	1,565	1,393				
	. % stability	100,0	96,3	92,9	84,2	78,6	69,9				
	pH	3,00	2,97	2,95	2,85	2,92	2,90				
55 °C	doxorubicin.HCl										
	. mg/ml	1,992	1,760	1,493	1,036	0,730					
	. % stability	100,0	88,4	74,9	52,0	36,6					
55 °C	pH	3,00	2,94	2,90	2,80	2,82					

Tabulka 22

Arrheniuv vztah. Konstanty rychlostní pseudo-prvního řádu, Arrheniova rovnice, vypočtené $t_{90\%}$

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, zjištěné hodnoty (K_{obs})

Teplota	$K_{obs} \times 10^3$ (1/den)	Korelační koeficient
27 °C	0,850	0,986
35 °C	3,505	0,983
45 °C	12,790	0,995
55 °C	49,340	0,995

Arrheniova rovnice z rychlostních konstant při 27 °C, 35 °C, 45 °C a 55 °C

$$\ln K_{obs} = - \frac{14083}{T} + 39,95$$

korelační koeficient = 0,9988

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, vypočtené hodnoty (K)

Teplota	$K \times 10^3$ (1/den)	$t_{90\%}$ (dny)	95% mez spolehlivosti
4 °C	0,019	5,652	3,079 - 10,380
8 °C	0,038	2,745	1,603 - 4,697
15 °C	0,130	810	532 - 0,1238
27 °C	0,918	115	89 - 147

Příklad 17

Dlouhodobá stabilita přípravků obsahujících doxorubicin majících pH od 2,5 do 3,5

Přípravky, jejichž data jsou uvedena v tabulkách 23, 24 a 25 byly připraveny následujícím způsobem.

Směs na lahvičku

doxorubicin.HCl	10 mg	20 mg	50 mg
0,5N kyselina chlo- rovodíková q.s na pH		2,8 - 3,5	
voda pro injekce q.s. do	5 ml	10 ml	25 ml

Doxorubicin.HCl se rozpustí v asi 90 procentech uvedeného množství vody pro injekce, odvzdušní se probubláním dusíkem. Kyselina chlorovodíková se přidá po kapkách k úpravě hodnoty pH na hodnotu uvedenou v tabulce 23. Přidá se odvzdušněná voda pro injekce tak, aby se připravila koncentrace doxorubicinu.HCl 2 mg/ml. Roztok se filtruje 0,22 μ m mikroporézní membránou pod tlakem dusíku. Objemy 5 ml, 10 ml a 25 ml roztoků byly rozděleny do bezbarvých skleněných lahviček typu I, majících objem 10 ml,

14 ml a 39 ml. Lahvičky se pak uzavřou kaučukovými zátkami potaženými teflonem a hliníkovými čepičkami. Takto připravené přípravky se testují na vzhled, čírost roztoků, pH, sterilitu (8 °C, každoročně), obsah doxorubicinu.HCl.

Testovací metody:

Pro vzhled a čírost: vizuální zjištění

Na pH: USP XXI

Na sterilitu: USP XXI (membránová filtrace)

Na obsah doxorubicinu.HCl: HPLC metoda iontových párů a USP HPLC metoda (USP XXI)

Popis metody HPLC iontových párů pro doxorubicin.

Obsah HCl:

Náplň kolony: reverzní fáze, Zorbax TMS

Mobilní fáze: voda : acetonitril : methanol

(54:29:17 obj./obj./obj.) obsahující 2 ml/l 85%

kyseliny fosforečné a 1 mg/ml laurylsulfátu sodného (párová složka) upravené na pH 3,5 2N hydroxidem sodným

Průtok mobilní fáze: 1,5 ml/min

Teploata kolony: okolí (22 °C ± 2 °C)

Analytická vlnová délka: 254 nm

Vhodné systémové parametry: symetrický faktor mezi 0,7 a 1,2; počet teoretických pater > 2500; reprodukovatelnost měření: variační koeficient < 1, n=6; resoluční faktor > 12

HPLC iontově-párová metoda pro stanovení obsahu doxorubicinu.HCl je ověřena pro svoji přesnost, preciznost, linearitu, citlivost, specifičnost a stálost.

Výsledky získané pro:

- . procenta stability doxorubicinu.HCl (iontově-párová metoda) a
- . pH

vztažené k lahvičkám uchovávaným v kolmé poloze jsou uvedeny v:

tabulce 26 - uchováváno při -20 °C

tabulce 27 - uchováváno při + 4 °C

tabulce 28 - uchováváno při + 8 °C

tabulce 29 - uchováváno při + 15 °C

tabulce 30 - uchováváno při + 27 °C

tabulce 31 - uchováváno při 100 a 250 stopových kandelách.

Obsah doxorubicinu.HCl uvedený v těchto tabulkách je zjištěn třemi nezávislými stanoveními.

K jiným parametrům zjišťovaným během zkoušek stability:

- čírost roztoku byla nezměněna za všech podmínek uchovávání
- vzhled roztoků byl a) nezměněný pro všechny zkoušky vzorků uchovávaných při 4 °C a 8 °C, b) slabě ztmavlý o 9 měsících při 15 °C, 3 měsících při 27 °C, 3 měsících při 100 a 250 stopových kandelách světla
- uzavírací systém byl nezměněn při všech zkouškách prováděných za všech skladovacích podmínek
- sterilita byla zachována po 12 měsících při 8 °C.

Výsledky kontrolních vzorků uchovávaných ve vertikální poloze se výrazně neliší od výsledků získaných v lahvičkách uchovávaných ve svislé poloze.

Hodnoty procent stability doxorubicinu.HCl získané USP HPLC metodou se výrazně neliší od výsledků získaných HPLC iontově-párovou metodou uvedených v tabulkách 26 - 31.

Získaná data stability ukazují, že testované roztoky doxorubicinu.HCl mající různé hodnoty pH v rozmezí od 2,5 do 3,5 dosahují nižší hranice přijatelnosti (90 % nominální koncentrace) v asi 9 a 2-3 měsících při 15 °C a popřípadě 27 °C, ale jsou stabilní až do 12 měsíců při 4 °C a 8 °C, tj. při teplotě odpovídající skladování produktů za chlazení. Toto je v protikladu k roztokům doxorubicinu.HCl získaným po rekonstituci obchodních lyofilizovaných preparátů, jejich pH se mění mezi 4,5 a 6 a které vykazují daleko nižší stabilitu. Je známo, že rekonstituované roztoky mohou být uchovány pouze 48 hodin v chladničce.

Tabulka 23 Studie stability, testované šarše

Charakteristiky šarše	Číslo									
	šarše	TF/23049	TF/23077	TF/23078	TF/23117	TF/23119	H0001	L0001	M0001	
doxorubicin.HCl na lahvičku		10	10	10	20	50	10	20	50	
		3,06	2,81	3,50	2,97	3,08	3,15	3,05	3,20	
přípravek č.	F16804/IL1	F16804/IL1		F16804/IL2		F16804/IL4	F16804/IL4	F16804/IL4		
	F16804/IL1					F16804/IL3	F16804/IL5			
velikost šarše										
počet lahviček	700	400	400	500	500	2,400	2300	2400		

Tabulka 24 Studie stability, testované přípravky

Přípravek							
číslo	FI 6804/IL 1	FI 6804/IL 2	FI 6804/IL 3	FI04/IL 4	FI 6804/IL 5	FI 6804/IL 6	
Složení na lahvičku							
doxorubicin.HCl							
mg	10	20	50	10	20	50	
kyselina chloro- vodíková q.s. na							
pH	2,8 - 3,5	2,8 - 3,5	2,8 - 3,5	2,8 - 3,5	2,8 - 3,5	2,8 - 3,5	
voda q.s. do							
ml	5,0	10,0	25,0	5,0	10,0	25,0	

Tabulka 25 studie stability. Použité balení.

		Šarže č. <u>TF/23049</u> <u>TF/23077</u> <u>TF/23078</u> <u>TF/23117</u> <u>TF/23119</u> <u>H0001</u> <u>L0001</u> <u>M0001</u>									
<u>Balení</u>											
lahvička skleněná	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
kapacita lahvičky	10 ml	10 ml	10 ml	14 ml	39 ml	10 ml	14 ml	39 ml			
zátky	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk	chlorbutylový kaučuk
	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak	teflonový povlak
	hliníkový	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-	hliníko-
	vý	vý	vý	vý	vý	vý	vý	vý	vý	vý	vý

Tabulka 26

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při -20 °C (lahvičky uloženy kolmo) v období až do tří měsíců.

Šarže dávka	Doba měsíce	0	1	3
H001 10 mg	.	100	99,9	99,6
	..	3,15	3,12	2,98
L0001 20 mg	.	100	100,8	99,8
	..	3,05	2,84	2,97
M0001 50 mg	.	100	100,7	101,0
	..	3,20	2,96	2,99

. doxorubicin.HCl % stability
.. pH

Tabulka 27

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při 4°C (lahvičky uloženy kolmo) až do 12 měsíců.

Šarže dávka	Doba měsíce						
		0	1	3	6	9	12
TF/23049 10 mg	.	100	99,9	100,6	98,3	98,2	97,7
	..	3,06	3,10	3,09	3,10	3,05	2,97
TF/23077 10 mg	.	100	101,7	99,3	97,9	98,0	99,8
	..	2,81	2,86	2,75	2,65	2,67	2,76
TF/23078 10 mg	.	100	101,2	98,8	97,8	98,8	99,2
	..	3,50	3,54	3,49	3,44	3,43	3,54
TF/23117 20 mg	.	100	96,8	96,6	98,1	98,8	
	..	2,97	2,98	2,92	2,86	2,95	
TF/23119 50 mg	.	100	98,6	99,1	98,9	98,4	
	..	3,08	2,98	2,98	2,89	2,99	
H0001 10 mg	.	100		97,6	99,2		
	..	3,15	n.s.	3,06	3,22		
L0001 20 mg	.	100		98,8	98,4		
	..	3,05	n.s.	2,99	2,94		
M0001 50 mg	.	100		99,7	99,7		
	..	3,20	n.s.	3,00	3,04		

. doxorubicin.HCl % stability

.. pH

n.s. = nestanoveno

Tabulka 28

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při 8 °C (lahvičky umístěny kolmo) až do 12 měsíců.

		Doba měsíce						
Šarže dávka		0	1	2	3	6	9	12
TF/23049	.	100	99,7		100,1	96,5	96,1	96,5
	..	3,06	3,07		3,09	3,07	3,05	2,96
10 mg								
TF/23077	.	100	102,1		101,6	97,5	96,6	95,0
	..	2,81	2,81		2,74	2,65	2,67	2,75
10 mg								
TF/23078	.	100	98,3		97,7	96,5	95,9	97,7
	..	3,50	3,59		3,47	3,27	3,43	3,51
10 mg								
TF/23117	.	100	95,7		95,8	97,8	96,2	
	..	2,97	2,97		2,92	2,85	2,96	
20 mg								
TF/23119	.	100	97,6		97,8	96,2	97,3	
	..	3,08	2,94		2,94	2,87	2,99	
50 mg								
H0001	.	100	98,2	99,4	96,4	96,7		
	..	3,15	3,12	3,16	3,05	3,23		
10 mg								
L0001	.	100	100,6	99,1	98,1	98,3		
	..	3,05	2,84	2,83	2,97	2,94		
20 mg								
M0001	.	100	100,3	100,6	98,7	99,0		
	..	3,20	2,96	2,97	3,01	3,03		
50 mg								

. doxorubicin.HCl % stability

.. pH

Tabulka 29

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při 15 °C (lahvičky uloženy kolmo) až do 12 měsíců.

		Doba měsíce							
		0	0,5	1	2	3	6	9	12
Šarže dávka									
TF/23049 10 mg	. ..	100 3,06	97,8 3,03	98,9 3,07		97,1 3,10	92,7 3,08	92,9 3,02	90,2 2,95
TF/23077 10 mg	. ..	100 2,81	100,4 2,81	101,9 2,85		98,8 2,71	94,6 2,63	92,7 2,67	91,1 2,74
TF/23078 10 mg	. ..	100 3,50	101,4 3,51	98,4 3,58		95,3 3,47	94,6 3,38	91,9 3,41	90,7 3,47
TF/23117 20 mg	. ..	100 2,97	99,1 2,95	96,4 2,95		95,2 2,90	94,6 2,81	90,7 2,95	
TF/23119 50 mg	. ..	100 3,08	97,4 2,99	97,1 2,95		95,9 2,91	92,7 2,87	90,6 2,98	
H0001 10 mg	. ..	100 3,15	97,9	97,9 3,12	97,1 3,16	94,8 3,06	94,6 3,23		
L0001 20 mg	. ..	100 3,05		100,5 2,85	98,7 2,87	96,3 2,98	95,5 2,96		
M0001 50 mg	. ..	100 3,20		99,4 2,96	100,3 2,94	97,2 3,01	95,6 3,04		

. doxorubicin.HCl % stability

.. pH

Tabulka 30

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při 27 °C (lahvičky uchovávány při této teplotě kolmo) až do 6 měsíců.

		Doba měsíce					
		0	0,5	1	2	3	6
Šarže dávka							
F/23049	.	100	97,2	95,8		87,9	73,6
0 mg	..	3,06	2,92	3,07		3,08	3,03
TF/23077	.	100	98,5	96,2		86,4	69,26
10 mg	..	2,81	2,80	2,85		2,71	2,64
TF/23078	.	100	101,2	94,5		80,5	71,1
10 mg	..	3,50	3,51	3,58		3,38	3,13
TF/23117	.	100	97,4	93,2		81,9	66,6
20 mg	..	2,97	2,95	2,94		2,88	2,77
TF/23119	.	100	96,0	93,3		85,3	66,8
50 mg	..	3,08	2,97	2,97		2,91	2,82
H0001	.	100		94,5	94,2	86,6	
10 mg	..	3,15		3,10	3,09	3,01	
L0001	.	100		97,2	94,3	89,3	
20 mg	..	3,05		2,84	2,85	2,96	
M0001	.	100		96,5	93,6	88,1	
50 mg	..	3,20		2,95	2,95	2,99	
. doxorubicin.HCl % stability							
.. pH							

Tabulka 31

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml. Data stability při 100 a 250 stopových kandelách (lahvičky uloženy horizontálně) až do 3 měsíců.

		Doba	100 stop. kandel				250 stop. kandel			
		měsíce	0	0,5	1	3	0,5	1	2	3
Šarže										
dávka										
TF/23049 10 mg	.	100	96,3	95,9	81,3	95,9	94,8			
	..	3,06	3,05	3,05	3,06	2,99	3,04			
TF/23077 10 mg	.	100	98,3	98,1	87,7	97,3	94,5			
	..	2,81	2,79	2,84	2,70	2,79	2,84			
TF/23078 10 mg	.	100	99,6	96,4	88,0	97,8	89,7			
	..	3,50	3,50	3,58	3,39	3,47	3,53			
TF/23117 20 mg	.	100	96,8	96,7	91,7	98,1	94,6			
	..	2,97	2,93	2,95	2,87	2,95	2,93			
TF/23119 50 mg	.	100	96,9	96,7	89,6	96,4	95,0			
	..	3,08	2,96	2,95	2,93	2,96	2,97			
H0001 10 mg	.	100					95,2	93,7	87,8	
	..	3,15					3,10	3,06	2,97	
L0001 20 mg	.	100					96,5	93,0	86,5	
	..	3,05					2,84	2,85	2,97	
M0001 50 mg	.	100					97,8	91,5	85,3	
	..	3,20					2,95	2,94	2,99	
. doxorubicin.HCl % stability										
.. pH										

Příklad 18

Odhad životnosti (t_{90} %) roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml ve sterilní vodě upravené na pH 3,0 a obsahující 0,9 % hmotnostních chlorid sodného.

Doxorubicin.HCl se rozpuť na koncentraci 2 mg/ml ve fyziologickém salinickém roztoku a pH se upraví na hodnotu 3,0 0,5N

kyselinou chlorovodíkovou. Roztok se filtruje 0,22 μm mikroporéz-
ní membránou za tlaku dusíku. 5,0 ml podíly se uchovávají při

- a) 50 °C 4 dny,
- b) 55 °C 11 dní,
- c) 45 °C 21 dní a
- d) 35 °C 28 dní

ve skleněných lahvičkách typu I, o kapacitě nádoby 8 ml,
s chlorbutylkaučukovou zátkou potaženou teflonem a hliníkovým
uzávěrem. V předem určeném čase se provede stanovení
doxorubicinu.HCl a pH. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 32.

Logaritmus zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl byl vynes
proti času pro každou serii výsledků. Byl zjištěn lineární vztah
ukazující, že degradace léčivu probíhá při konstantním pH
a teplotě podle kinetik pseudo-prvního řádu. Zjištěné rychlostní
konstanty (K_{obs}) pro degradaci byly vypočteny vždy lineární
regresní analýzou vynesemím přirozeného logaritmu zbytkové kon-
centrace doxorubicinu.HCl ($|Dx|_t$) proti času, jak je znázorněno
dříve uvedenou rovnicí:

$$\ln|Dx|_t = \ln |Dx|_0 - K_{\text{obs}} \cdot t$$

Arrheniova rovnice pro degradační proces byla vypočtena
z K_{obs} získaných z různých teplot uvedených v testech (tabulka
33). Podle této rovnice byly spočítány rychlostní konstanty pro
reakce pseudo-prvního řádu při teplotách 4 °C, 8 °C, 15 °C
a 27 °C, spolu s očekávanou životností ($t_{90\%}$) při těchto teplo-
tách. Odhad $t_{90\%}$ v tabulce 19 ukazuje, že významná životnost může
být přisuzována vodnému roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci
2 mg/ml obsahujícímu 0,9 % chloridu sodného při hodnotě pH 3,0,
jestliže produkt je skladován v chladničce při 2 °C až 8 °C.

Tabulka 32 Zrychlené data stability roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml
v 0,9% roztoku chloridu sodného při různých časech a teplotách.

Podmínky uchovávání		testy		doba (dny)							
		0	1	2	3	4	8	11	14	21	28
35 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,061					2,045		1,946	1,932	1,852
	· % stability	100,0					99,2		94,4	93,7	89,9
	pH	3,05					2,98		2,92	2,92	2,98
45 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,061					1,996	1,724		1,517	1,344
	· % stability	100,0					96,8	8,86		73,6	65,2
	pH	3,05					2,98	2,97		2,98	2,93
55 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,061					1,450	1,066	0,900		
	· % stability	100,0					70,4	51,7	43,7		
	pH	3,05					2,90	2,97	2,95		
60 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,061	1,742	1,481	1,290	1,050					
	· % stability	100,0	84,5	71,9	62,6	50,9					
	pH	3,05	2,97	2,96	2,98	2,96					

Tabulka 33

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml a pH 3,0 v 0,9% NaCl. Arrheniův vztah. Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, Arrheniova rovnice, vypočtené $t_{90\%}$.

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, zjištěné hodnoty (K_{obs})

teplota	$K_{obs} \times 10^3$ (1/den)	korelační koeficient
35 °C	3,89	0,965
45 °C	21,61	0,987
55 °C	75,90	0,996
60 °C	164,9	0,998

Arrheniova rovnice z rychlostních konstant při 35 °C, 45 °C, 55 °C a 60 °C

$$\ln K_{obs} = \frac{15100}{T} + 43,53$$

korelační koeficient = 0,9986

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, vypočtené hodnoty (K)

Teploata	$K \times 10^3$ (1/den)	$t_{90\%}$ (dny)	mez spolehlivosti 95% obsahu
4 °C	0,017	6,166	(1 670 - 22 756)
8 °C	0,037	2,838	(861 - 9 351)
15 °C	0,137	768	(281 - 2 105)
27 °C	1,112	94	(45 - 197)

Příklad 19

Dlouhodobá stabilita přípravků obsahujících doxorubicin.HCl ve fyziologickém salinickém roztoku při pH 3

Podle způsobu popsaného v příkladu 17 se stanoví dlouhodobá stabilita přípravků z příkladů 18 roztoků doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v 0,9% roztoku (hmot.) chloridu sodného (fyziologický salinický roztok). Byly testovány tři šarže obsahující 10 mg, 20 mg a 50 mg doxorubicinu.HCl. Výsledky jsou dále uvedeny v tabulkách 20 až 24. Lahvičky byly skladovány v kolmé poloze při zkouškách uvedených v tabulkách 34 až 37, ale ve vodorovné poloze pro stanovení shrnutá v tabulce 38. Skladovací podmínky byly:

Tabulka 34: 4 °C

Tabulka 35: 8 °C

Tabulka 36: 15 °C

Tabulka 37: 27 °C

Tabulka 38: teplota místnosti (t.m.) a 2,69 klx (250 stopových kandel, st. k.)

Tabulka 36

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v salinickém roztoku pro injekce při pH = 3. Data stability při 15 °C (lahvičky uchovávány v kolmé poloze) až do 6 a 9 měsíců.

Šarže dávka	Doba měsíce	0	1	2	3	6	9	12
P0001 10 mg	.	100	100,6	99,9	95,9	94,0		
	..	3,00	2,93	2,89	2,90	2,99		
Q0001 20 mg	.	100	98,6	97,8	95,1	96,4		
	..	3,01	3,01	3,01	3,04	3,01		
R0001 50 mg	.	100	98,8	97,5	97,6	94,7	96,0	
	..	3,02	3,02	3,08	3,08	3,14	3,11	
. doxorubicin.HCl % stability								
.. pH								

Tabulka 37

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v salinickém roztoku pro injekce při pH = 3. Data stability při 27 °C (lahvičky uchovávány v kolmé poloze) až do 3 měsíců.

Šarže dávka	Doba měsíce	0	1	2	3
P0001 10 mg	.	100	98,3	95,0	84,9
	..	3,00	2,93	2,89	2,88
Q0001 20 mg	.	100	86,0	93,2	83,8
	..	3,01	3,01	2,99	3,03
R0001 50 mg	.	100	95,6	92,2	88,7
	..	3,02	3,02	3,06	3,05
. doxorubicin.HCl % stability					
.. pH					

Tabulka 38

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml v salinickém roztoku pro injekce při pH = 3. Data stability při t.t. + 250 st. k. (lahvičky umístěny vodorovně) až do 3 měsíců.

Šarže dávka	Doba měsíce				
	0	1	2	3	
P0001 10 mg	.	100	89,6	86,5	70,3
	..	3,00	2,92	2,86	2,84
Q0001 20 mg	.	100	91,1	84,5	72,7
	..	3,01	2,99	2,97	2,98
R0001 50 mg	.	100	96,0	91,4	86,6
	..	3,02	3,01	3,04	3,02

. doxorubicin.HCl % stability

.. pH

Příklad 20

Odhad skladovatelnosti (t 90 %) roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml ve sterilní vodě obsahující 5 % hmotn. dextrozy při pH = 3,0.

Doxorubicin.HCl se rozpustí v koncentraci 2 mg/ml ve vodě pro injekce obsahující 5 % hmotnostních dextrozy a hodnota pH se upraví na 3,0 0,5N kyselinou chlorovodíkovou. Roztok se filtruje 0,22 μ m mikroporézní membránou pod tlakem dusíku. 5,0 ml podíly se uchovávají při:

- 60 °C 8 dní,
- 55 °C 28 dní,
- 45 °C 28 dní a
- 35 °C 28 dní

ve skleněných lahvičkách typu I, o kapacitě 8 ml, s chlorbutyl-kaučukovou zátkou potaženou teflonem a hliníkovým uzávěrem. V předem určeném čase se provede stanovení obsahu doxorubicinu.HCl a pH. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 39.

Logaritmus zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl proti času byl vynesena pro každou serii výsledků. Byla zjištěna lineární závislost ukazující, že degradace léčivu probíhá při konstantním pH a teplotě podle kinetik pseudo-prvního řádu. Zjištěné rychlostní konstanty (K_{obs}) pro degradaci byly vypočteny vždy lineární regresní analýzou vynesením přirozeného logaritmu zbytkové koncentrace doxorubicinu.HCl ($|DX|_t$) proti času, jak je znázorněno dříve uvedenou rovnicí:

$$\ln |Dx|_t = \ln |Dx|_0 - K_{\text{obs}} \cdot t$$

Arrheniova rovnice pro degradační proces byla vypočtena z K_{obs} získaných při různých teplotách uvedených v testech (tabulka 40) Podle této rovnice byly spočítány rychlostní konstanty reakcí pseudo-prvního řádu při 4 °C, 8 °C, 15 °C a 27 °C, spolu s očekávanou živnostností při těchto teplotách ($t_{90\%}$). $t_{90\%}$ odhad v tabulce 40 ukazuje, že významná životnost může být přisuzována vodnému roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml, obsahujícímu 5 % dextrozy při pH 3,0, jestliže je produkt uchováván v chladničce mezi 2 až 8 °C.

Tabulka 39 Zrychlená data stability roztoku doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml a pH 3,0 v 5% dextroze v různých časech a při různých teplotách.

Podmínky uchovávání	testy	doba (dny)									
		0	2	4	6	8	11	14	17	21	28
25 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,114		2,044		2,034		2,015		1,934	1,859
	· % stability	100,0		96,7		96,2		53,3		91,5	87,9
	pH	3,02		2,98		2,94		2,95		2,90	2,94
45 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,114		1,940		1,870		1,684		1,510	1,410
	· % stability	100,0		91,8		88,5		79,7		71,5	66,7
	pH	3,02		2,97		2,98		2,95		2,96	2,96
55 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,114		1,718		1,415		1,112		0,957	0,796
	· % stability	100,0		81,3		66,9		52,6		45,3	37,7
	pH	3,02		2,95		2,92		2,99		2,91	2,95
60 °C	doxorubicin.HCl										
	· mg/ml	2,114	1,752	1,393	1,176	0,925					
	· % stability	100,0	82,9	65,9	55,7	43,8					
	pH	3,02	2,96	2,98	2,96	2,97					

Tabulka 40

Roztok doxorubicinu.HCl o koncentraci 2 mg/ml při pH roztoku 3,0 v 5% dextroze. Arrheniův vztah. Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, Arrheniova rovnice, vypočítané $t_{90\%}$.

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, zjištěné hodnoty (K_{obs})

teplota	$K_{obs} \times 10^3$ (1/den)	korelační koeficient
5 °C	4,190	0,990
5 °C	14,55	0,995
5 °C	58,11	0,998
0 °C	102,6	0,999

Arrheniova rovnice z rychlostních konstant při 35 °C, 45 °C, 55 °C a 60 °C

$$\ln K_{obs} = \frac{13266}{T} + 37,56$$

korelační koeficient = 0,9993

Rychlostní konstanty pseudo-prvního řádu, vypočtené hodnoty (K)

Teplota	$K \times 10^3$ (1/den)	$t_{90\%}$ (dny)	mez spolehlivosti 95% obsahu
4 °C	0,0326	3,218	(1 463 - 7 082)
8 °C	0,0645	1,628	(792 - 3 344)
15 °C	0,203	516	(281 - 949)
27 °C	1,283	82	(53 - 128)

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Injektovatelný, sterilní, apyrogenní roztok anthracyklinového glykosidu k okamžitému použití na bázi nelyofilizované fyziologicky snesitelné soli anthracyklinového glykosidu rozpuštěné ve fyziologicky snesitelném vodném rozpouštědle při koncentraci anthracyklinového glykosidu od 0,1 do 50 mg/ml, vyznačující se tím, že nelyofilizovaná fyziologicky snesitelná sůl anthracyklinového glykosidu vybraného ze skupiny zahrnující doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-4'-jodo-doxorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin s anorganickou kyselinou je rozpuštěna ve vodném rozpouštědle vybraném ze skupiny zahrnující vodu, fyziologický salinický roztok, směs vody a alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující C_{4-5} -alifatický amid, C_{2-7} -alkohol, glykol, polyglykol a pyrrolidonový derivát jako je 2-pyrrolidon, N-methyl-2-pyrrolidon nebo polyvinylpyrrolidon, a vodu obsahující dextrozu jako činidlo pro úpravu osmolality a pH roztoku je nastaveno na

- rozmezí 2,5 a 5,0 fysiologicky snesitelnou anorganickou kyselinou nebo fysiologicky snesitelnou organickou kyselinou.
2. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že anthracyklinovým glykosidem je doxorubicin.
 3. Roztok podle bodu 2, vyznačující se tím, že koncentrace rozpuštěného doxorubicinu je 2 mg/ml až 50 mg/ml.
 4. Roztok podle bodu 3, vyznačující se tím, že koncentrace rozpuštěného doxorubicinu je 2 mg/ml až 20 mg/ml.
 5. Roztok podle bodu 4, vyznačující se tím, že koncentrace rozpuštěného doxorubicinu je 2 mg/ml nebo 5 mg/ml.
 6. Roztok podle bodu 2, vyznačující se tím, že hodnota pH je nastavena kyselinou chlorovodíkovou.
 7. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že nelyofilizovaná fysiologicky snesitelná sůl anorganické kyseliny je sůl kyseliny chlorovodíkové.
 8. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že vodným rozpouštědlem je voda, fysiologický salinický roztok, směs vody a nejvýše 30 % obj. alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující ethanol, polyethylenglykol a dimethylacetamid.
 9. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že koncentrace rozpuštěného anthracyklinového glykosidu je 1 mg/ml až 20 mg/ml.
 10. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že obsahuje přídatné složky vybrané ze skupiny zahrnující činidla pro úpravu osmolality například chlorid sodný, dextrozu, laktozu nebo mannitol a konzervační činidla například chlorkresol nebo ester para-hydroxybenzoové kyseliny.
 11. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že hodnota pH je nastavena kyselinou sírovou, fosforečnou, octovou, jantarovou, vinnou, askorbovou, citronovou, glutamovou, methansulfonovou nebo ethansulfonovou.
 12. Roztok podle bodu 1, vyznačující se tím, že hodnota pH je nastavena na 2,5 až 4,0.
 13. Roztok podle bodu 12, vyznačující se tím, že pH je nastaveno na hodnotu 2,62 až 3,14.
 14. Roztok podle bodu 12, vyznačující se tím, že pH je nastaveno na hodnotu 3.
 15. Způsob přípravy injektovatelného, sterilního, apyrogenního roztoku anthracyklinového glykosidu k okamžitému použití na bázi nelyofilizované fysiologicky snesitelné soli anthracyklinového glykosidu ve fysiologicky snesitelné soli anthracyklinového glykosidu ve fysiologicko snesitelném vodném rozpouštědle při koncentraci anthracyklinového glykosidu od 0,1 do

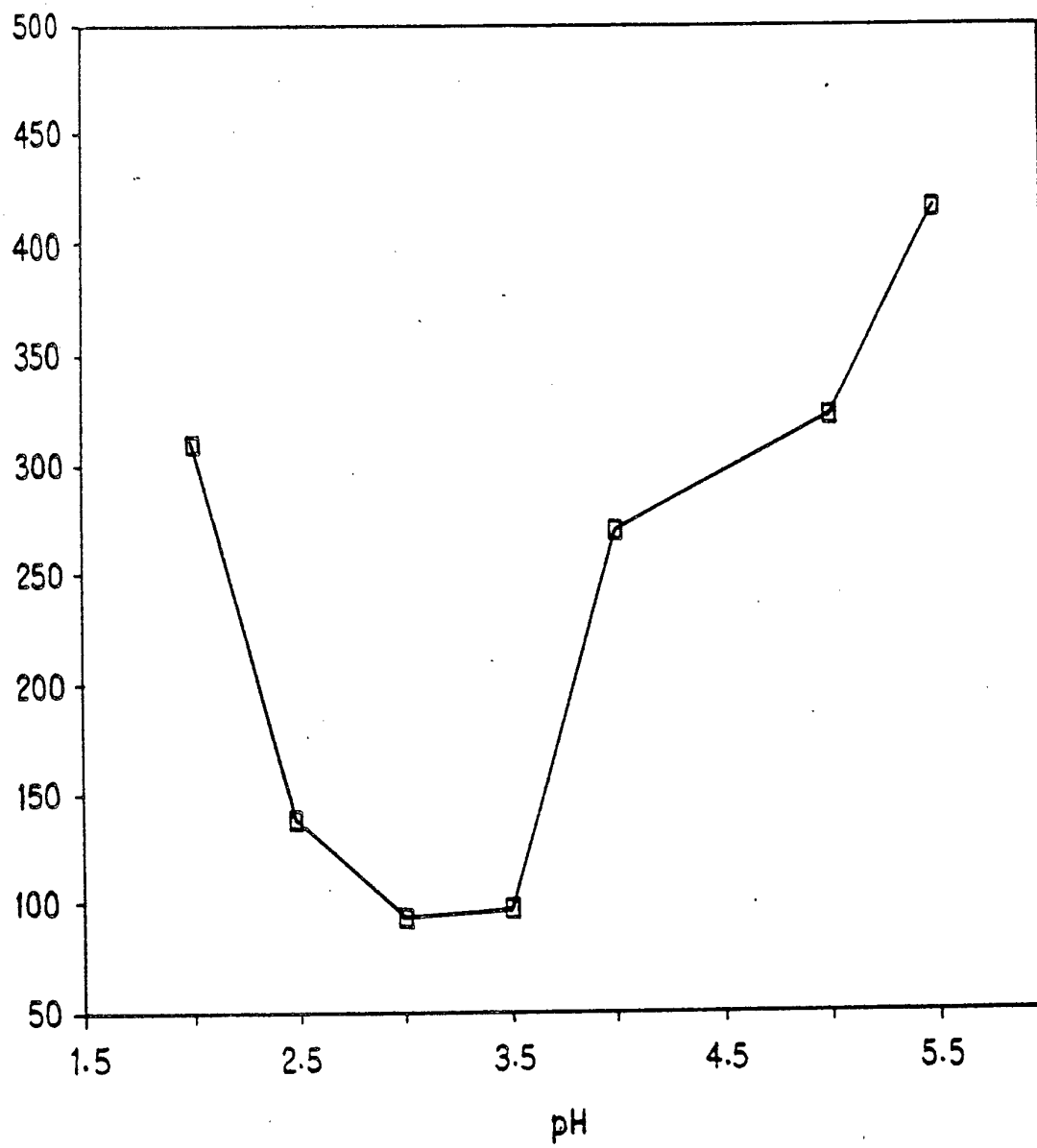
50 mg/ml a zfiltrováním, vyznačující se tím, že nelyofilizovaná fyziologicky snesitelná sůl anthracyklinového glykosidu vybraného ze skupiny zahrnující doxorubicin, 4'-epi-doxorubicin, 4'-desoxy-4'-jodo-doxorubicin, daunorubicin a 4-demethoxy-daunorubicin s anorganickou kyselinou je rozpuštěna ve vodném rozpouštědle vybraném ze skupiny zahrnující vodu, fyziologický salinický roztok, směs vody a alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující C₄₋₅-alifatický amid, C₂₋₇-alkohol, glykol, polyglykol a pyrrolidonový derivát jako je 2-pyrrolidon, N-methyl-2-pyrrolidon nebo polyvinylpyrrolidon, a vodu obsahující dextrozu jako činidlo pro úpravu osmolality a pH roztoku je nastaveno na rozmezí 2,5 až 5,0 fyziologicky snesitelnou anorganickou kyselinou nebo fyziologicky snesitelnou organickou kyselinou.

16. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se jako anthracyklinový glykosid použije doxorubicin.
17. Způsob podle bodu 16, vyznačující se tím, že se doxorubicin rozpustí při koncentraci od 2 mg/ml až 50 mg/ml.
18. Způsob podle bodu 17, vyznačující se tím, že se doxorubicin rozpustí při koncentraci od 2 mg/ml až 20 mg/ml.
19. Způsob podle bodu 18, vyznačující se tím, že se doxorubicin rozpustí při koncentraci od 2 mg/ml nebo 5 mg/ml.
20. Způsob podle bodu 16, vyznačující se tím, že se hodnota pH roztoku upraví kyselinou chlorovodíkovou.
21. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se jako nelyofilizovaná fyziologicky snesitelná sůl s anorganickou kyselinou použije sůl s kyselinou chlorovodíkovou.
22. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se jako vodné rozpouštědlo použije voda, fyziologický salinický roztok nebo směs vody a alespoň jedné látky vybrané ze skupiny zahrnující ethanol, polyethylenglykol a dimethylacetamid.
23. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se anthracyklický glykosid rozpustí při koncentraci od 1 mg/ml do 20 mg/ml.
24. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se před zfiltrováním přidají k roztoku přídavné složky vybrané ze skupiny zahrnující činidla pro úpravu osmomality například chlorid sodný, dextrozu, laktozu nebo mannitol a konzervační činidla například chlorkresol nebo ester para-hydroxybenzoové kyseliny.
25. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se pH upraví přídavkem kyseliny chlorovodíkové, sírové, fosforečné, octové, jantarové, vinné, askorbové, citronové, glutamové, methansulfonové nebo ethansulfonové.
26. Způsob podle bodu 15, vyznačující se tím, že se pH upraví na hodnotu 2,5 až 4,0.

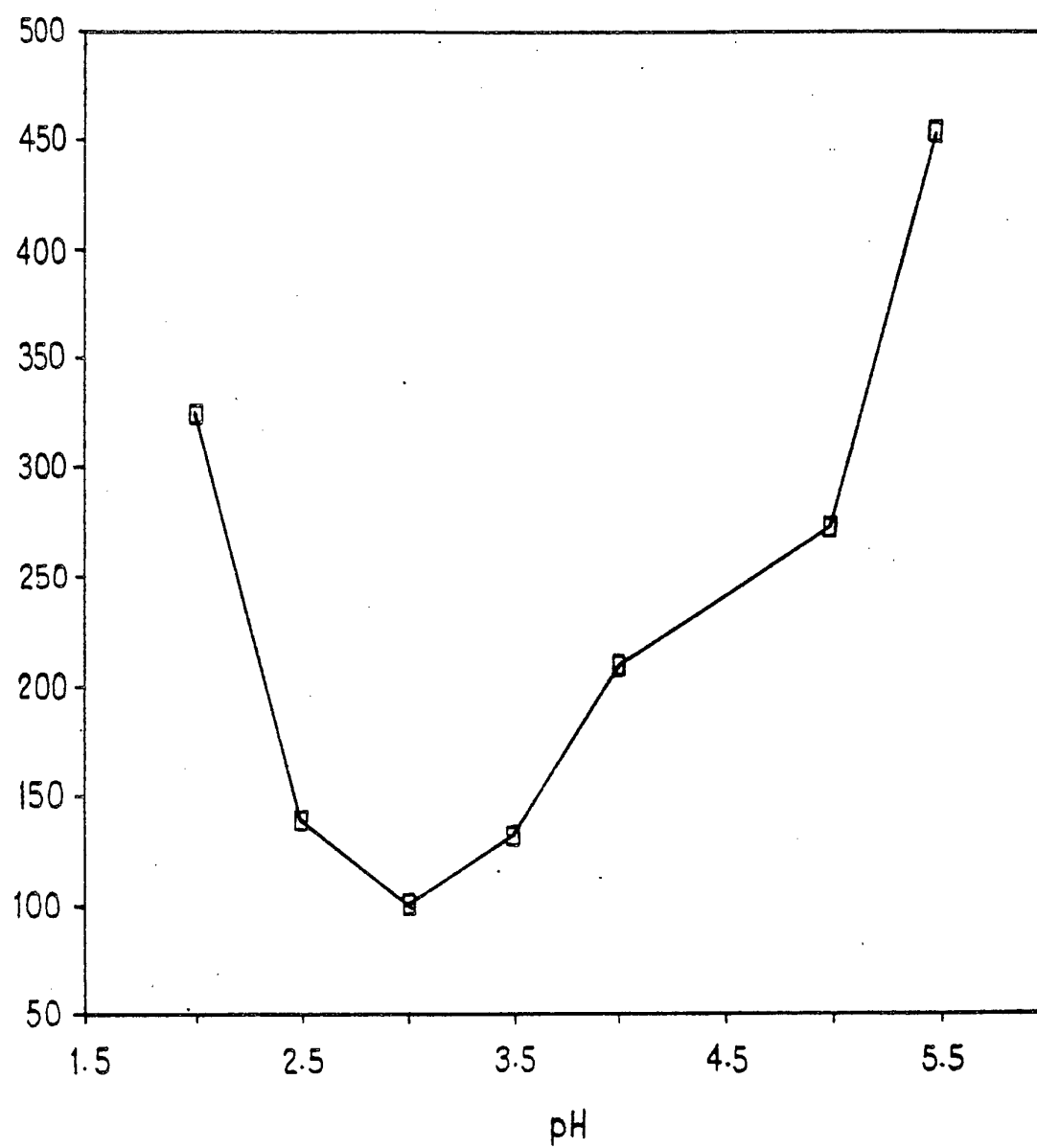
27. Způsob podle bodu 26, vyznačující se tím, že se pH upraví na hodnotu 2,62 až 3,14.

28. Způsob podle bodu 26, vyznačující se tím, že se pH upraví na hodnotu 3.

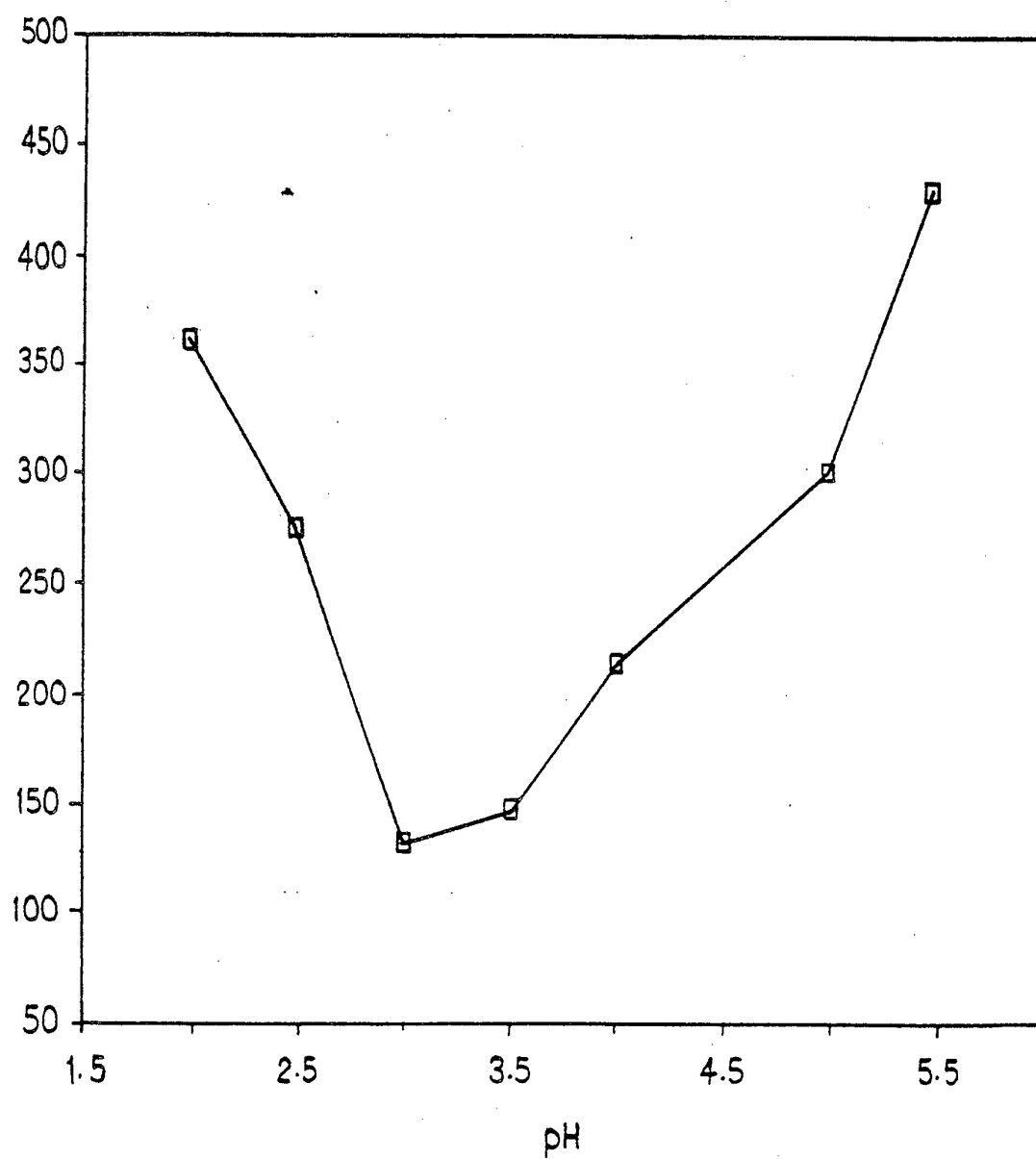
3 výkresy



OBR. 1



OER, 2



OBR. 3

Konec dokumentu
