(19) **RU** (11) **2 053 766** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 9/08, 31/71, 31/415**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: **4743840/14, 08.05.1990**

(30) Приоритет: **10.05.1989 US 349608**

(46) Дата публикации: **10.02.1996**

(56) Ссылки: **Патент US 4785085, кл. A 61K 31/415, 1989.**

(71) Заявитель:
Бристоль-Мейерз Сквибб Компани (US)

(72) Изобретатель: **Убрани В.Венткатарам[JN], Мириам К.Франчини[US], Джозеф Б.Богардус[US]**

(73) Патентообладатель:
Бристоль-Мейерз Сквибб Компани (US)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, ИНГИБИРУЮЩАЯ РОСТ ОПУХОЛИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и касается фармацевтической композиции, ингибирующей рост опухоли. Изобретение обеспечивает стабильность в течение не менее 2 лет при комнатной температуре. Сущность изобретения заключается в том, что фармацевтическая композиция, ингибирующая рост опухоли, содержит 8 - N/диэтиламиноэтил/ребенкамицин - 0,1 - 50 мг и воду - 1 мл, фармацевтически приемлемую кислоту, обеспечивающую pH 3 - 4. 5 з. п. ф-лы, 3 табл.

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

(19) **RU** (11) **2 053 766** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 9/08, 31/71, 31/415**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **4743840/14, 08.05.1990**

(30) Priority: **10.05.1989 US 349608**

(46) Date of publication: **10.02.1996**

(71) Applicant:
Bristol'-Mejerz Skvibb Kompani (US)

(72) Inventor: **Ubrani V.Ventkataram[JN], Miriam K.Franchini[US], Dzhozef B.Bogardus[US]**

(73) Proprietor:
Bristol'-Mejerz Skvibb Kompani (US)

(54) PHARMACEUTICAL COMPOSITION INHIBITING TUMOR GROWTH

(57) Abstract:

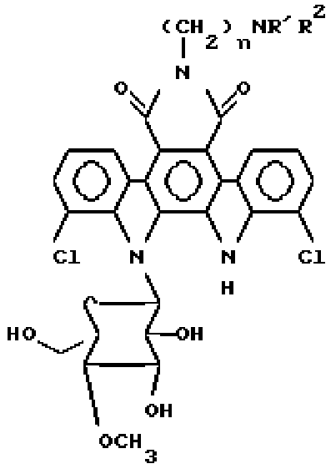
FIELD: medicine. SUBSTANCE: pharmaceutical composition inhibiting tumor growth has 8-N-(diethylaminoethyl)-rebenkamycin 0.1-50 mg and water 1 ml, and acceptable acid to provide pH 3-4. Composition is stable for 2 years (not less) at the room temperature storage. EFFECT: increased stability of composition. 6 cl, 3 tbl

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

Изобретение относится к стабильным растворам противоопухолевого соединения 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина и к предпочтительному способу их получения.

В патенте США N 4785085 описаны ребеккамициновые аналоги, включающие 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин следующей формулы:



где n=2;

каждый из R^1 и R^2 является этилом.

Соединение относится к 6-(2-диэтиламиноэтил)ребеккамицину. Однако соединение недостаточно растворимо в воде для получения водного раствора для инъекций. Вместо раствора оно образует суспензию. Был описан способ получения кислотно-аддитивных солей и солей с основаниями, в результате чего можно повысить растворимость ребеккамицинового аналога. Получение гидрохлоридной соли 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина описано 6-(2диэтиламиноэтил)ребеккамицина.

Что касается кислотноаддитивных солей 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина, включая гидрохлорид, то трудность заключается в том, что кристаллические кислотно-аддитивные соли, содержащие эквимолярные количества кислоты и основания, при добавлении в воду в концентрации, достаточной для использования или разбавления до фармацевтических дозированных форм, не образуют достаточно стабильных водных растворов. Длительные исследования выявили необычную физическую нестабильность в течение срока, меньшего, чем срок, приемлемый для фармацевтических композиций, т.е. не менее 2 лет при комнатной температуре. Эта необычная физическая нестабильность включает гелеобразование, осаждение, помутнение и образование жидкокристаллических фаз, что делает растворы кристаллических солей непригодными для практики или для разбавления водой при получении растворов для инъекций.

Целью изобретения является получения водного раствора 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина для инъекций или для разбавления при получении растворов для инъекций, практически химически и физически стабильного в течение не менее 2 лет при комнатной температуре.

Термин "стабильный" означает здесь практическую химическую и физическую стабильность в течение не менее двух лет при комнатной температуре при защите от света, например отсекая свет мутным материалом или помещая раствор в емкость из коричневого стекла, если она дополнительно не означает, что анализ показывает присутствие не менее 95 мас. 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина, первоначально растворенного в растворе. Термин "практически физически стабильный" означает практическое отсутствие образования геля, осадка, помутнения или жидкокристаллической фазы либо других образований, которые могут сделать раствор непригодным для инъекций.

Было открыто, что использование определенных кислот в определенных количествах в сочетании с нужными концентрациями 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина в воде приводит к получению стабильных водных растворов с указанными концентрациями 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина. Кислоты являются фармацевтически приемлемыми кислотами, один молярный эквивалент которых солюбилизирует 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин. Кислоты используют в количестве, большем чем указанный молярный эквивалент для достижения pH ниже 4. Кислота, используемая в количестве молярного эквивалента, не ведет к положительному эффекту изобретения. Таким образом, сами по себе кристаллические кислотно-аддитивные соли в виде водного раствора не дают стабильного раствора.

Кроме стабильности при комнатной температуре, эти растворы обладают повышенной стабильностью при низких температурах, например при температурах рефрижераторов или при охлаждении, используемом при транспортировке, хранении и пр.

Стабильные растворы по изобретению в основном состоят из следующих компонентов: а) вода, b) 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин в эффективном дозированном количестве в концентрации до 50 мг/мл воды; с) такая фармацевтически приемлемая кислота, присутствие которой в количестве молярного эквивалента будет солюбилизировать (b), причем эта кислота присутствует в избытке по сравнению с молярным эквивалентом, давая стабилизирующий pH в интервале 3-4.

Термин "эффективное дозирование количества" соответствует эффективному противоопухолевому количеству, которое вводится как таковое или после разбавления.

Термины "молярный эквивалент" или "молярно эквивалентный" означает, что для полной нейтрализации 1,0 моль 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина требуется 1,0 молярный эквивалент кислоты. Следовательно, в случае дипротонных кислот, таких как винная кислота, 1,0 моль 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина требует 0,5 моль кислоты для одного молярного эквивалента кислоты и более 0,5 моль кислоты для получения избытка кислоты в сравнении с молярным эквивалентом.

Предпочтительный способ получения стабильных водных растворов включает в себя следующие стадии: а) получение суспензии 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина в воде в концентрации не менее 1 мг/мл воды; b) добавление фармацевтически приемлемой

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

кислоты, такой что присутствие ее мольного эквивалента будет солюбилизировать 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин, присутствующий в суспензии, полученной на стадии (а), в количестве, избыточном по сравнению с указанным молярным эквивалентом для достижения стабилизирующего pH, лежащего в интервале 3-4.

Рассмотрим сначала стабильные растворы.

Водный компонент должен быть пригоден для получения растворов для инъекций, например это может быть вода для инъекций.

8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин обычно должен присутствовать в концентрации не менее 0,1 мг/мл воды, часто в концентрации не менее 1 мг/мл воды или не менее 5 мг/мл воды, так как эти концентрации могут давать или могут быть разбавлены до противоопухолево эффективных инъектируемых концентраций. Верхний предел определяется солюбилизирующим действием кислотного компонента (с) и растворимостью кислотноаддитивной соли 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина с молярным эквивалентом указанной кислоты. Концентрация 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина должны быть такой, чтобы не протекала кристаллизация при охлаждении раствора, обычно до 2-8°С. Обычно выбирают верхний предел 50 мг/мл, который выше наивысшей дозы лекарства, определяемой по токсичности, и позволяет проводить разбавление до эффективной дозы.

Как отмечалось выше, кислотный компонент (с) должен быть фармацевтически приемлемым. Это означает, что кислотный компонент (с) не должен существенно увеличивать токсичность свободного основания.

Кислотный компонент (с) предпочтительно является таким, чтобы его кислотно-аддитивная соль, образованная свободным основанием и молярным эквивалентом кислоты, имела растворимость в воде при комнатной температуре большую, чем 25 мг/мл. Фармацевтически приемлемые кислотные компоненты (с), соответствующие этому критерию растворимости, включают в себя, например, L-(+)-винную, D, L-яблочную, -(-)-яблочную, лимонную, L-(+)-молочную, лактобионовую кислоты, метансульфокислоту, фосфорную, пироглютаминовую, янтарную и серную кислоты. Из них наиболее предпочтительна L-(+)-винная кислота.

Как указывалось выше, кислотный компонент (с) присутствует в избытке по отношению к молярному эквиваленту (b), давая pH в интервале около 3-4. Верхний предел около 4 необходим для получения стабильного раствора, т.е. физически стабильного. Хотя рецептуры с pH ниже 3 стабильны, однако такие кислоты pH нежелательны с точки зрения физиологической приемлемости. Присутствие предпочтительного компонента (с) дает pH около 3,0-3,6 при концентрации 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина около 10-25 мг/мл воды.

Наиболее предпочтительно использовать винную кислоту в качестве компонента (с) в эквимолярном количестве по отношению к 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицину. Если 8-N-(диэтиламиноэтил)*, ребеккамицин присутствует в концентрации 25 мг/мл воды, то это дает pH 3,2. Как хорошо известно, разбавление этой композиции водой приведен к повышению pH раствора по направлению к нейтральному значению. Следует отметить, что различие в частоте может вызывать небольшие измерения pH при той же концентрации активного ингредиента.

Как отмечалось выше, предпочтительный способ получения раствора заключается в получении суспензии 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина в воде и в последующем прибавлении кислотного компонента до нужного pH. Затем проводят перемешивание, например 5-15 ч при комнатной температуре. Любое легкое помутнение легко устраняется фильтрованием.

Кроме того, раствор можно получать, сначала прибавляя кислоту к воде, а затем прибавляя 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин, либо прибавляя в емкость кислоту и активный ингредиент, а затем прибавляя воду.

Для увеличения скорости растворения можно использовать известные способы, такие как нагрев, интенсивное перемешивание, отработка ультразвуком и пр.

Растворы можно также легко получать, добавляя кислотно-аддитивную соль к воде (полученные из кислоты, обеспечивающей первоначальную растворимость 8-N-(диэтиламиноэтил/ребеккамицина) и затем доводя pH до 3-4 той же кислоты, которая присутствует в кислотно-аддитивной соли, или другой кислотой отвечающей требованиям, предъявляемым к компоненту (с).

При терапевтическом лечении млекопитающих, например животных, пораженных злокачественной опухолью, растворы по изобретению нужно вводить в эффективном количестве для ингибирования роста опухоли, т.е. в дозированном количестве, эффективном для ингибирования роста опухоли. Как правило, ингибирующее рост опухоли количество лежит в интервале около 0,1-100 мг/кг веса тела животного в день. Понятно, что реальная предпочтительная доза соединения будет широко варьироваться в зависимости от состояния излечиваемого животного, места расположения опухоли, ее типа и способа введения лекарства. Многие факторы, влияющие на активность антинеоплавтических агентов, будут учитываться специалистом, использующим данное изобретение, включая, например, возраст, вес тела, пол пациента, диету, время введения, способ выведения, состояние пациента и тяжесть заболевания. Оптимальный способ введения (или нанесения) для данного набора условий может быть легко выбран специалистом с помощью обычных испытаний по определению дозы.

Растворы могут быть использованы для инъекций как таковые, если инъектируемое количество соответствует нужной дозе, либо могут быть разбавлены для введения если инъектируемое количество дает слишком

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

высокую дозу. Разбавление легко проводить водой для инъекций, USP солевым раствором, 5%-ным раствором декстрозы и т.п. Инъектируемые концентрации обычно лежат в интервале 0,1-50 мг/мл в расчете на содержание свободного основания в 1 мл воды.

Представленные ниже примеры иллюстрируют характерные варианты данного изобретения, но не ограничивают его объем.

П р и м е р 1. Раствор концентрации 12 мг/мл свободного основания на мл воды получают из 249,2 мг свободного основания, т.е. 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина чистоты 96,2% 54,0 мг L-(+)-винной кислоты и 20 мл стерильной воды для инъекций следующим образом. Свободное основание суспендируют в воде. Затем прибавляют кислоту. Затем проводят перемешивание в ампуле из флингласса, обернутой алюминиевой фольгой для защиты от света. Результирующий слегка мутный раствор фильтруют затем через 0,2 мкм фильтра Acrodisc CR, получая прозрачный желтый раствор. Состав соответствует мольному отношению свободного основания к кислоте 1:1, pH фильтруемого раствора равен 3,6.

Если получить аналогичный раствор, но с использованием 520,15 мг свободного основания и 112,6 мг винной кислоты, то полученный раствор содержит 25 мг/мл (свободного основания на мл воды), молярное соотношение свободного основания и винной кислоты равно в нем 1:1, а pH 3,2.

П р и м е р 2. 10 мг/мл (свободного основания на мл воды) раствор получают из 10,40 г 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина (чистоты 96%) 2,26 г L-(+)-винной кислоты и стерильной воды для инъекций USP, которой доводят объем до 1000 мл, следующим образом,

8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицин суспендируют (в количестве 90% от нужного) в порции воды для инъекций. Затем добавляют L-(+)-винную кислоту и суспензию перемешивают ночь, получая слегка мутный раствор. Затем добавляют воду для инъекций до 1000 мл и раствор асептически фильтруют под давлением азота через фильтр Gelnan Capsule (P N12120) и собирают в стерильный сосуд. Раствор асептически переносят в флинглассовые ампулы USP тип 1 (10 мл/ампулу). Ампулы продувают стерильным газобразным азотом и герметизируют. Раствор содержит винную кислоту и свободное основание при молярном соотношении 1:1 и имеет pH 3,5.

Испытание на хранение в течение 4 недель при температуре до 56°C не обнаруживает физических или химических изменений, что указывает на возможное время годности не менее 2 лет при хранении при 2-30°C и защите от света.

При введении внутривенной инфузией полученный раствор можно разбавить, например, до 1 мг свободного основания на 1 мл воды водой для инъекций USP или 5%-ным раствором декстрозы. Установлено, что разбавленные растворы физическим стабильны в течение 24 ч при нормальных комнатных условиях и освещении.

П р и м е р 3. Растворы, содержащие 25 мг 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина на мл воды получают из кислоты при мольном отношении кислоты к основанию, указанном ниже. Растворы хранят 4 недели при 56°C и защите от света, при этом получены результаты, представленные в табл. 1.

Приведенные результаты указывают на критическое значение pH для достижения физической стабильности. При такой проверке физической стабильности не протекают физические изменения, что предполагает физическую стабильность в течение не менее 2 лет при хранении при 2-30 °C и защите от света.

Вышеописанные растворы испытывают также на замораживание (размораживание, проводя циклы от -20 °C до комнатной температуры 5 раз в течение недели). Растворы, определенные как физически стабильные в вышеописанном испытании, являются также физически стабильными и в данном испытании, и это указывает на то, что эти растворы можно охлаждать и даже замораживать без нарушения качества.

П р и м е р 4. Раствор 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина, полученный с винной кислотой, испытывают на противоопухолевую активность по отношению к трансплантированной мышиной лейкемии P-338 по методике Geran и др. Cancer Chenother, Repts, 3,1-103 (1972). Выбранная методика включает внутрибрюшинное (ВБ) введение испытуемого соединения самкам мышей CDF 1/18/22 г/, зараженных внутрибрюшинным введением $1x10^6$ асцитных клеток. Лекарственную терапию начинают на 1 день (дата трансплантации) и она состоит в 1 инъекции в день в течение 5 последовательных дней. С использованием раствора 8-N-(диэтиламиноэтил)ребеккамицина с концентрацией 25 мг свободного основания на мл воды и винной кислоты в молярном соотношении 1:1 со свободным основанием получают дозы таким разбавлением, чтобы они содержались в 0,5 мл раствора для ВБ инъекции и в 0,2 мл для внутривенной инъекции и ниже они обозначены как "изобретение". В представленных ниже результатах MST соответствует среднему времени выживания, дни; T/C представляет собой среднее время выживания испытуемых животных, деленное на среднее время выживания контрольных животных и умноженное на 100; AWC представляет собой среднее изменение веса на 5 день, г. Митомицин C включен для сравнения. Получены следующие результаты испытаний, ВБ, которые представлены в табл.2.

Результаты при испытании с внутривенным введением представлены в табл.3.

Приведенные результаты показывают, что растворы по изобретению, содержащие винную кислоту, обладают антинеопластической активностью.

Формула изобретения:

1. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, ИНГИБИРУЮЩАЯ РОСТ ОПУХОЛИ, включающая 8-N-(диэтиламиноэтил) ребеккамицин и растворитель, отличающийся тем, что растворитель состоит из воды и фармацевтически приемлемой кислоты, присутствующий в избытке, чтобы солюбилизировать активное вещество и обеспечить pH 3 - 4, при следующем содержании компонентов:

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

8-N-(Диэтиламиноэтил)-ребеккамицин, мг - 0,1 - 50,0

Вода, мл - 1

Фармацевтически приемлемая кислота, обеспечивающая pH - 3 - 4

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанная кислота такова, что ее кислотно-аддитивная соль с 8-N-(диэтиламиноэтил) ребеккамицином имеет растворимость в воде при комнатной температуре выше, чем 25 мг/мл.

3. Композиция по п.2, отличающаяся тем, что указанную кислоту выбирают из группы, состоящей из α-(+)-винной, D, α-(-)-яблочной, α-(-)-яблочной, лимонной, α-(+)-молочной, лактобионовой кислот, метансульфокислоты, фосфорной, пироглютаминовой, янтарной и серной кислот.

4. Композиция по п.2, отличающаяся тем, что указанную кислоту выбирают из группы, состоящей из α-(+)-винной, α-(-)-яблочной, фосфорной, α-(+)-молочной, янтарной, лактобионовой кислот.

5. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что указанная кислота является α-(+)-винной кислотой.

6. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что α-(+)-винная кислота и 8-N-(диэтиламиноэтил) ребеккамицин присутствуют в эквимолярных количествах.

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1

Таблица 1

Кислота	pH	Физическая стабильность	Количество основания, остающегося в растворе, %
L–(+)-винная кислота (кислота:основание 1:1)	3,2	Изменения не обнаружены	96
L–(+)-винная кислота (кислота:основание 1:2)	5,1	Образует гель	Не анализировали
L–(–)-яблочная кислота (кислота:основание 1,7:1)	3,4	Изменения не обнаружены	100
L–(–)-яблочная кислота (кислота:основание 1:1)	3,8	Образует осадок	94
Фосфорная кислота (кислота:основание 1,2:1)	3,5	Изменения не обнаружены	99
Фосфорная кислота (кислота:основание 1:2)	4,5	Образует мутный раствор	98
L–(+)-молочная кислота (кислота:основание 2,5:1)	3,6	Изменения не обнаружены	100
Янтарная кислота (кислота:основание 4:1)	3,5	Изменения не обнаружены	99
Лактобионовая кислота (кислота:основание 3:1)	3,3	Изменения не обнаружены	102

Таблица 2

Лекарство	Доза, ВБ мг/кг/инъекция	MST	% T/C	AWC
Митомицин С	4,8	20,5	205	– 0,6
	3,2	20,5	205	– 0,1
Изобретение	24	15,5	155	– 0,8
	18	16,5	165	– 1,0
	12	15,0	150	0,1
Контроль	–	10	100	1,6

Таблица 3

Лекарство	Доза, внутривенно мг/кг/инъекция	MST	% T/C	AWC
Митомицин С	4,8	12,0	160	– 0,1
	3,2	11,0	147	– 0,4
	1,6	9,5	127	0,4
Изобретение	96	12,5	167	– 0,7
	80	12,0	160	0,3
	64	11,0	147	0,3
	48	10,0	133	1,4
Контроль	–	7,5	100	1,4

RU 2053766 C1

RU 2053766 C1