

(19) C2 (11) 64692 (13) UA

(98) а/с 295, м. Київ, 03150

(85) 1997-05-14

(74) Ошарова Ірина Олександрівна, (UA)

(45) [2004-03-15]

(43) null

(24) 2004-03-15

(22) 1995-10-11

(12) null

(21) 97041743

(46) 2004-03-15

(86) 1995-10-11 PCT/US95/14105

(30) 08/323,081 1994-10-14 US

(54) ЛІОФІЛІЗАТ ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ НЕРОЗЧИННОГО У ВОДІ КАМПТОТЕЦИНУ ЛІОФІЛІЗАТ ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКС А ВОДОНЕРАСТВОРИМОГО КАМПТОТЕЦИНА PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING LYOPHILIZATE OF WATER INSOLUBLE CAMPTOTHECIN

(56) US 4311712 A, 19.01.1982. 1 BURKE ET AL, Lipid bilayered partitioning and stability of camptothecin drugs, Biochemistry, Volume 32, Number 20, 1993, pages 5352-5364. 1 BURKE ET AL, Liposomal stabilization of camptothecin's lactone ring, J.Am.Chem. Soc., Volume 114, 1992, pages 8318-8319. 1

(71)

(72) US Черіан Метью US Черіан Метью US Черіан Метью

(73) US ФАРМАЦІЯ ЕНД АПДЖОН КОМПАНІ US ФАРМАЦІЯ ЕНД АПДЖОН КОМПАНІ US PHARMACIA and UPJOHN COMPANY

Фармацевтическая композиция, содержащая лиофилизат водонерастворимого камптотецина, фосфолипид и фармацевтически приемлемый лиофилизационный носитель, причем камптотецин и фосфолипид представляют собой липидный комплекс.

Запропонована фармацевтична композиція, що містить ліофілізат водонерозчинного камптотецину, фосфоліпід і фармацевтично прийнятний ліофілізаційний носій, причому камптотечин і фосфоліпід становлять ліпідний комплекс.

A pharmaceutical composition comprising a lyophilizate of a water insoluble camptothecin, a phospholipid, and a pharmaceutically acceptable lyophilization excipient.

1. Фармацевтическая композиция, содержащая лиофилизат нерастворимого в воде камптотецина, фосфолипид и фармацевтически приемлемый лиофилизационный носитель, **отличающаяся тем, что** она содержит указанные камптотецин и фосфолипид в форме липидного комплекса.
2. Фармацевтическая композиция по п.1, **отличающаяся** тем, что она обладает способностью образовывать коллоидную дисперсию при её разбавлении физиологически приемлемым водным разбавителем.
3. Фармацевтическая композиция по п.1, **отличающаяся** тем, что указанный фосфолипид, выбран из группы, состоящей из димиристоилфосфатидилхолина, димиристоилфосфатидилглицерола, димальмитоилфосфатидилхолина, дипальмитоилфосфатидилглицерола, дистеароилфосфатидилхолина, дистеароилфосфатидилглицерола или любой из их смесей.
4. Фармацевтическая композиция по п.1, **отличающаяся** тем, что фосфолипид представляет собой смесь димиристоилфосфатидилхолина и димиристоилфосфатидилглицерола.
5. Фармацевтическая композиция по п. 4, **отличающаяся** тем, что весовое отношение димиристоилфосфатидилхолина к димиристоилфосфатидилглицеролу составляет 7:3.
6. Фармацевтическая композиция по п.1, **отличающаяся** тем, что отношение камптотецина к фосфолипиду в фармацевтической композиции составляет приблизительно от 1:80 до 1:5.
7. Фармацевтическая композиция по п. 1, **отличающаяся** тем, что в качестве носителя она содержит маннитол.
8. Фармацевтическая композиция по п. 6, **отличающаяся** тем, что в качестве нерастворимого в воде камптотецина она содержит 9-аминокамптотецин.
9. Фармацевтическая композиция по п. 8, **отличающаяся** тем, что в качестве 9-аминокамптотецина она содержит 9-амино-20-(S)-камптотецин.
10. Фармацевтическая композиция по п. 8, **отличающаяся** тем, что в качестве 9-аминокамптотецина она содержит 9-амино-20-(R,S)-камптотецин.
11. Фармацевтическая композиция по п. 1, **отличающаяся** тем, что она предназначена для внутривенного введения.
12. Фармацевтическая композиция по п. 1, **отличающаяся** тем, что она предназначена для перорального приема.
13. Фармацевтическая композиция по п. 1, **отличающаяся** тем, что она предназначена для подкожного введения.
14. Фармацевтическая композиция по п. 1, **отличающаяся** тем, что она дополнительно содержит холестерин.
15. Фармацевтическая композиция по п. 2, **отличающаяся** тем, что удельный вес разбавителя приблизительно равен удельному весу липидного комплекса.

Фармацевтическая композиция, содержащая лиофилизат нерастворимого в воде камптотецина, фосфолипид и фармацевтически приемлемый носитель.

Настоящее изобретение относится к фармацевтически приемлемой форме дозировки нерастворимых в воде камптоцетинов и, в частности, 9-амино-20(S)-камптотецина (далее 9-АК) и 9-амино-20(R) камптотецина, которые можно разбавлять и вводить больному внутривенно или подкожно а также в составе композиций для перорального приема при лечении раковых и других заболеваний.

Камптотецин и его аналоги проявляют противоопухолевую активность против рака толстой кишки, лейкемии и экспериментально трансплантированной карциномы, например лейкемии L-1210 у мышей или опухолей Уолкер-256 у крыс (см. Postmiesel M., DNA Topoisomerases in Cancer). Камптотецин представляет собой пятициклический алкалоид, включающий систему из 5 конденсированных ядер хинолина (кольца А и В), пиролоина (кольцо С), альфа-пиридона (кольцо D) и шестичленного лактона (кольцо Е). Было обнаружено, что незатронутое лактонное кольцо, кольцо Е и гидроксильная группа в позиции 20 имеют важное значение для противоопухолевой активности.

Исследование аналогов камптотецина выявило взаимосвязь между способностью вещества индуцировать разрыв ДНК и его противоопухолевой активностью. Оно обладает уникальным механизмом, который позволяет разрушать ДНК в присутствии топоизомеразы I, мономерного фермента, который может изменять топологию ДНК в эукариотных клетках. Топоизомеразы I связываются с ДНК, что позволяет развернуться двойной спирали и закрыть разрыв перед диссоциацией из цепочки ДНК. Полагают, что камптотецин связывается и стабилизирует комплекс ДНК-топоизомеразы I, связанный ковалентной связью, в котором одна нить спирали ДНК разорвана, что не дает возможности ДНК рекомбинироваться.

Применение камптотецина и его аналогов в медицине ограничено из-за их низкой растворимости в воде и высокой токсичности. Были разработаны методы снижения токсичности камптотецина не причиняя вреда его противоопухолевой активности посредством создания его производных. Были разработаны производные камптотецина, замещенные в положениях 7-, 9-, 10-, и 11. По меньшей мере три производных камптотецина находятся на различных стадиях испытаний, а именно: 7-этил-[14-(1-пиперидино)-1-пиперидин]-карбонилосикамптотецин (CPT-11); 20-(S)-камптотецин; 10-[(диметиламино)-метил]-4-этил-4,9-дигидрокси-1Н-пирано-[3',4':6,7]-индолизино[1,2-b]-хинолин-3,14-(4Н,12Н)-дион-моногидрохлорид (топотекан-гидрохлорид); и 9-амино-20(s)-камптотецин.

9-АК является продуктом, который почти не растворяется в воде (0,002мг/мл). Это вызывает трудности в приготовлении стерильной, стабильной при хранении формы дозировки. В исследованиях, проведенных Национальным Раковым Институтом (НРИ) 9-АК вводили в состав композиций с органическим растворителем - диметилацетамидом (ДМА) для преодоления трудностей, связанных с ограниченной растворимостью препарата. Состав, разработанный НРИ содержит 5мг 9-АК в 1мл DMA. Непосредственно при использовании продукт растворяют, используя разбавитель, состоящий из полиэтиленгликоля 400 фармацевтической чистоты согласно Фармакопеи США и фосфорной кислоты. Разбавитель добавляют в состав, разработанный НРИ в количестве 49мл разбавителя на 1мл состава.

Состав, разработанный НРИ имеет недостатки, которые делают его неудобным для промышленного применения. Из-за того, что DMA разрушает резиновые пробки, продукт нельзя поставлять в сосудах с резиновыми пробками, а исключительно в ампулах. Ампулы неудобны для пользования, т.к. их нужно обламывать для обеспечения доступа к содержимому, а это может привести к ранениям персонала и загрязнению их содержимым ампул. Кроме того, осколки стекла могут попасть в ампулы и вследствие этого содержимое необходимо подвергать фильтрации.

DMA не является подходящим носителем, пригодным для внутривенного введения (ВВ) из-за возможных токсичных побочных эффектов. DMA обладает фактором LD₅₀ 5,4мл/кг, что необходимо принимать во внимание при введении лекарства.

Другой подход при разработке форм дозировки предусматривает использование липосом. Т. Дж. Бурке и др. (T.G. Burke et al) в журнале "Biochemistry", 1993, 32, 5352-64 (1993) предлагает использование липосом в качестве системы доставки камптотецина. Бурке и др. обнаружил, что камптотецин связывается как с липидами димиритоилфосфатилглицерола (ДМФГ) так и с липидами димиритоилфосфатилхолина (ДМФХ) и является стабильным как в двойных слоях липосом ДМФГ так и в ДМФХ. Авторы полагают, что лактонное кольцо проникает через слой липосом. Связанный липосомами камптотецин отличается стабилизацией лактонного кольца.

В настоящее время не разработано фармацевтически приемлемого состава 9-АК для введения больным. Есть потребность в разработке стабильной фармацевтической композиции, которую можно было бы удобно вводить больному раком при сохранении структурных элементов, которые имеют важное значение для обеспечения фармакологической активности 9-АК.

В основу настоящего изобретения поставлена задача - разработать фармацевтически приемлемую форму дозировки 9-АК или другого нерастворимого в воде камптотецина. Другой задачей настоящего изобретения является создание липидных комплексов 9-АК и других нерастворимых в воде камптотецинов. Следующей задачей настоящего изобретения является создание лиофилизатов липидных комплексов. Леофилизат можно восстанавливать с помощью воды, физиологического раствора или другого электролита с образованием коллоидной дисперсии, пригодной для внутривенного или подкожного введения или вводить в состав таблеток или мягких или твердых желатиновых капсул для перорального приема. Ранее камптотецины не использовали для подкожного введения, т.к. они вызывают некроз. Однако, обнаружено, что липидный комплекс может значительно замедлить высвобождение нерастворимых в воде камптотецинов, что делает возможным подкожное введение.

Хотя изобретение будет в дальнейшем касаться приготовления липидных комплексов и лиофилизатов 9-АК, специалистам в данной области техники известно, что изложенные методы также применимы для приготовления липидных комплексов и лиофилизатов других камптотецинов, которые считаются нерастворимыми в воде.

В соответствии с настоящим изобретением получают лиофилизат фосфолипидного комплекса 9-АК, который можно разбавлять с помощью фармацевтически приемлемого водного растворителя, например воды, для последующего введения и, который по сравнению с растворами 9-АК в диметилацетамиде

является менее токсичным и, что особенно важно - его использование в фармацевтических составах и введение не ограничиваются растворимостью 9-АК.

В соответствии с настоящим изобретением лиофилизат получают по способу, предусматривающему стадии приготовления раствора 9-АК в первом органическом растворителе, приготовления раствора фосфолипида во втором органическом растворителе, перемешивании раствора фосфолипида и 9-АК, добавления в полученные растворы воды для образования липидного комплекса 9-АК, удаления первого и второго органических растворителей для обеспечения диспергирования липидного комплекса в воде, используемой в качестве водной фазы, растворения фармацевтически приемлемого носителя в водной фазе дисперсии и лиофилизации дисперсии липидного комплекса с образованием лиофилизата. Лиофилизат образует коллоидную дисперсию при разбавлении с помощью физиологически приемлемого водного растворителя.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, лиофилизат получают по способу, который предусматривает стадии получения концентрированного раствора 9-АК в диметилсульфоксиде, получения концентрированного раствора фосфолипидов ДМФГ и ДМФХ в хлороформе, перемешивании растворов фосфолипидов и 9-АК, добавления водного раствора, например воды для инъекций, для получения липидного комплекса 9-АК и образования дисперсии липидного комплекса в воде, используемой в качестве водной фазы, барботирования и диафильтрации дисперсии для удаления растворителей, уменьшения размера частиц дисперсии липидного комплекса, добавления водного раствора маннитола как фармацевтически приемлемого лиофилизационного носителя и последующей лиофилизации дисперсии, в результате чего получают лиофилизат, который при разбавлении водой образует коллоидную дисперсию липидного комплекса 9-АК.

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения получают лиофилизованную композицию, которая содержит 9-аминокамптотецин или другой нерастворимый в воде камптотецин, где композиция содержит 9-АК, фосфолипид и фармацевтически приемлемый лиофилизационный носитель.

Термин "нерастворимый в воде камптотецин" в том виде, в котором он употреблен в настоящем описании, означает камптотецин или другой алкалоид, имеющий пятичленную структуру, который включает характерную для камптотецина конденсированную структуру из 5 колец и растворимость в воде которого составляет менее 0,01 мг/мл при 23°C.

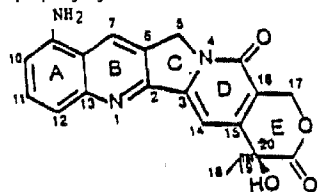
Термин "липидный комплекс" является общепринятым в данной области техники. Липидные комплексы характеризуются не ковалентной связью между липидом и камптотецином и которая наблюдается как фазовый переход в дифференциальной сканирующей калориметрии.

Термин "фармацевтически приемлемый водный разбавитель" в том, в котором он употреблен в настоящем описании, означает воду для инъекций, физиологический раствор и любые другие водные носители.

Термин "лиофилизационный носитель" относится к веществу, которое добавляют к раствору перед лиофилизацией для придания определенных свойств, например, цвета, текстуры, прочности и объема лепешки. Примеры лиофилизационных носителей приведены ниже.

9-АК получили путем восстановления 9-нитрокамптотецина восстановительным агентом, например комбинацией олова или железа с минеральной кислотой (см. патент США №4604463 на имя Миясака и др.). Способы получения 9-амино-20(S)-камптотецина и 9-амино-20-(R,S)-камптотецина описаны в патентах США №5106742 и 5225404. Другие нерастворимые в воде камптотецины известны в технике и способы их получения описаны в литературе.

9-амино-20(S)-камптотецин имеет химическую формулу $C_{20}H_{17}N_3O_4$ и следующую структурную формулу:



В соответствии с изобретением получают концентрированный раствор 9-АК в органическом растворителе. В качестве типичного примера растворителя, используемого для получения такого раствора можно привести диметилсульфоксид (ДМСО). Однако, можно использовать и другие растворители, например диметилформамид. Подходящие растворители должны образовывать стабильные растворы с аналогами камптотецина, например растворитель не должен взаимодействовать, дестабилизировать и/или дезактивировать лекарство. Кроме того, растворимость аналога камптотецина в растворителе должна быть достаточно высокой, чтобы аналог камптотецина мог полностью раствориться в объемах достаточных для обеспечения промышленно необходимого количества липидного комплекса. Кроме того, растворитель необходимо легко удалять из водной дисперсии липидного комплекса, как это будет описано далее. Предпочтительно используют раствор, имеющий концентрацию камптотецина приблизительно 5-50 мг/мл, предпочтительно 20-40 мг/мл и наиболее предпочтительно 40 мг/мл. Концентрация может изменяться в зависимости от природы растворителя и температуры, но важное значение в приготовлении комплекса жидкость/камптотецин имеет то, чтобы раствор был концентрированным. Это сводит к минимуму количество растворителя, который в дальнейшем подлежит удалению и облегчает извлечение камптотецина из раствора и образование комплекса жидкость/камптотецин с липидом при добавлении воды.

Органический растворитель, используемый для приготовления раствора фосфолипидов должен отвечать подобным требованиям, которые предъявляют к растворителю для камптотецина. Он должен быть совместимым с фосфолипидами и не должен дестабилизировать их или камптотецины. Кроме того, липиды должны обладать достаточно высокой растворимостью, чтобы можно было ввести достаточное для образования комплекса количество липида при минимальном количестве растворителя, который в

дальнейшем подлежит удалению. Наиболее предпочтительным является растворитель, который можно легко удалить из дисперсии липидного комплекса. В качестве примера растворителя, используемого для получения этого раствора, можно привести хлороформ или метилхлорид. Обычно концентрация раствора фосфолипида составляет приблизительно 10-250мг/мл.

Фосфолипиды имеют двойственную природу по отношению к водной фазе, т.к. молекулы имеют гидрофобную хвостовую часть, например углеводород с длинной цепочкой, и гидрофильную головную часть. В водной среде, например воде или физиологическом растворе, хвостовые части распрямляются в направлении от молекул воды, в то время как головные части сворачиваются по направлению к молекулам водной фазе. Это свойство фосфолипидов делает их пригодными для включения в состав таких малорастворимых лекарств как 9-AK.

Фосфолипиды, используемые в изобретении выбирают таким образом, чтобы температура их фазового перехода была равна или ниже температуры тела или 37°C, при которой комплекс высвобождает лекарство в теле человека. Примерами подходящих фосфолипидов являются синтетические фосфолипиды ДМФХ и ДМФГ, дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), дипальмитоилфосфатидилглицерола (ДПФГ), или дистеароилфосфатидилглицерола (ДСФГ) или их комбинации. Другие примеры фосфолипидов можно найти в справочнике "CRC Handbook of Lipid Bilayers", M.A. Marsh, CRC Press (1990). При использовании ДМФХ и ДМФГ в отношении 7:3, они имитируют клеточную мембрану.

Раствор липида добавляют к раствору 9-AK в таком количестве, чтобы весовое соотношение 9-AK к липиду составляло приблизительно 1:80- 1:5, предпочтительно 1:80 - 1:10, более предпочтительно 1:60 - 1:10 и наиболее предпочтительно 1:45 - 1:25.

В некоторых случаях было обнаружено, что к липидному комплексу предпочтительно добавлять холестерин, или его гемисукцинатные производные. Полагают, что холестерин приводит к более плотному упаковыванию двойных слоев и тем самым замедляет высвобождение лекарства. Это особо предпочтительно для составов, предназначенных для подкожного введения, когда слишком быстрое высвобождение лекарства может вызвать некроз. Холестерин добавляют в раствор фосфолипида. Холестерин можно использовать в количестве приблизительно 0,5-15ч. на 100ч. фосфолипида.

Как только растворы липидов и камптотецина перемешали, к смеси сразу же добавляют воду или водный раствор и перемешивают в течение нескольких минут. Полагают, что добавление воды приводит к выходу 9-AK и липида из их соответствующих растворителей и образованию комплекса друг с другом. Воду предпочтительно добавлять в таком количестве, чтобы концентрация 9-AK составляла приблизительно 0,05мг-0,5мг на 100мл воды. Желательно ограничить содержание воды, чтобы свести к минимуму то количество воды, которое необходимо удалить в процессе лиофилизации. Полагают, что процесс комплексообразования может быть завершен через 30 мин. Однако, дисперсию желательно перемешивать в течение одного часа для полного завершения процесса комплексообразования.

Вышеописанную дисперсию липидного комплекса подвергают обработке для удаления растворителей. Для этого можно использовать ряд способов. Например, было обнаружено, что хлороформ можно удалить, если дисперсию барботировать газом, например азотом. Для удаления ДМСО используют процесс диафильтрации (также известный как процесс фильтрации с использованием тангенциального потока). Можно использовать колонку с трубками, которые содержат пустотелые волокна, имеющие диаметр пор 5-150килодальтон. Колонку для диафильтрации можно получить от компании А/Г Текнолоджи Корпорейшн (A/G Technology Corporation), г. Нидхэм, Массачусетс, США. Также можно использовать центрифугирование.

В водной фазе затем растворяют фармацевтически приемлемый лиофилизационный наполнитель. В качестве наполнителя обычно берут маннитол, но также могут быть использованы и другие наполнители, которые не вступают во взаимодействие с лекарством. В качестве примера таких наполнителей можно привести фосфат натрия или калия, лимонную кислоту, винную кислоту, желатин, углеводороды, например маннитол, лактозу, декстрозу, дексдран, гетакрахмал и др. Для получения лепешки хорошего качества, которая легко диспергируется в воде при разбавлении наполнителя можно использовать отдельно или в комбинации.

Наполнители обычно добавляют в дисперсию в виде их водных растворов. Желательно опять использовать концентрированные растворы для сведения к минимуму того количества воды, которое подлежит удалению в ходе последующей лиофилизации. Наполнитель берут в таком количестве, чтобы лепешка не давала трещин или усадки и была пористой, что позволяет ей легко растворяться в воде, а также иметь хорошие эстетические свойства. Было обнаружено, что хорошие результаты обеспечивает маннитол. Маннитол добавляют в дисперсию в виде раствора с концентрацией 5-150г/мл. Маннитол добавляют в количестве приблизительно 1-100вес.ч. на 1ч. 9-AK.

После удаления растворителей и добавления наполнителя, дисперсию пропускают через гомогенизатор (например, роторно/статорный гомогенизатор Термара, модель T25 или струйный гомогенизатор, модель M110Y). Как правило, чем меньше размер частиц дисперсии, тем процесс лиофилизации протекает быстрее. Было обнаружено, что для лиофилизации оптимальной является дисперсия с размером частиц приблизительно 10-500мкм и средним размером частиц приблизительно 250мкм. Размер частиц может меняться в зависимости от способа введения лекарства.

Типичный процесс лиофилизации, который можно использовать в способе настоящего изобретения описан ниже. Процесс можно подвергать изменениям в зависимости от используемого оборудования и имеющихся в распоряжении возможностей как это известно специалистам в данной области техники.

Гомогенизованную композицию можно поместить в пробирку объемом 5-50мл. Пробирки помещают в лиофилизационную камеру при температуре около 5°C. Пробирки выбирают такого размера, чтобы каждая пробирка одну дозу 9-AK. Температуру камеры понижают до -30°C в течение одного часа и затем выдерживают при -30°C в течение около четырех часов. Давление в лиофилизационной камере затем понижают до 200-250мк на оставшийся период. После снижения давления в камере, температуру повышают до +25°C в течение пятнадцати часов и продукт выдерживают при 25°C в течение пяти часов. Температуру затем повышают до +40°C в течение 20 минут и выдерживают при 40°C в течение 2 часов.

Лиофилизированный продукт имеет содержание влаги менее 5%, обычно 1-2%.

Для внутривенного и подкожного введения лиофилизат можно разбавлять при помощи водных растворов, например воды, физиологического раствора или другого электролита. При добавлении воды лиофилизированный продукт превращается в коллоидную дисперсию липидного комплекса в водном растворе носителя. Ни 9-АК ни липиды не растворяются в воде. Коллоидная дисперсия состоит из по меньшей мере двух дискретных фаз. Первая является дисперсной или внутренней фазой. Вторая является непрерывной или внешней фазой. Системы в коллоидном состоянии содержат одно или более веществ, которые имеют размер от 10-100А до нескольких микрон (см. С. 272-274, глава 19 в кн. "Disperse Systems, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, 1990, Mack Publishing Company, Easton, PA 18042). В коллоидных дисперсиях по настоящему изобретению, дисперсная или внутренняя фаза содержит частицы липидного комплекса 9-АК с размером частиц от 10мкм до 1000мкм. При выборе водного носителя рекомендуется выбирать носитель с удельным весом, который приблизительно соответствует удельному весу липидного комплекса (1,09г/см³) для сведения к минимуму тенденции дисперсии к разделению. Леофилизат липидного комплекса может быть разбавлен водой, физиологическим раствором или другим фармацевтически пригодным водным разбавителем, который предназначен для внутривенного введения. После разбавления получают дисперсию, которая пригодна для инъекций. Леофилизат также можно вводить перорально в форме водной дисперсии или пасты. Хотя камптотецины обычно не вводят подкожно, т.к. они вызывают некроз, было обнаружено, что липиды замедляют высвобождение камптотецина в ткань, что позволяет подкожное введение липидного комплекса.

Для перорального приема леофилизат можно разбавить для получения пероральной дисперсии или образовать продукт пастообразной консистенции. Кроме того леофилизат можно ввести в мягкую желатиновую капсулу для перорального приема.

Обычно дозы приема 9-АК и камптотецинов составляют приблизительно 35-250мг/м²/час. Лекарство предпочтительно вводят методом вливания в течение 3-21 дней при помощи запрограммированного инфузионного насоса. Лекарство предпочтительно вводить с гранулоцитным колониестимулирующим фактором (ГКСФ).

Хотя комплекс липид/камптотецин подвергают леофилизации для повышения его стабильности, особо ценным является то, что комплект является фармацевтически активным и его можно вводить в составы для перорального, внутривенного или подкожного приема без леофилизации. Для повышения стабильности комплекса могут быть использованы вспомогательные средства, например антибактериальные агенты и антиоксиданты.

Возможность практического осуществления настоящего изобретения подтверждают приведенные ниже примеры, которые не ограничивают его сущность.

Примеры 1 - 8

Леофилизаты 9-АК были получены с помощью растворителей, фосфолипидов и носителей, количества которых приведены в Таблице 1. В каждом случае растворы получали путем растворения 9-АК в указанных количествах в ДМСО и растворяя ДМФХ и ДМФГ в хлороформе. Растворы перемешивали и добавляли воду для инъекций. Полученные дисперсии перемешивали в течение приблизительно одного часа, после чего удаляли хлороформ путем барботирования азотом в течение приблизительно 95мин. ДМСО удаляли путем центрифугирования дисперсии, удалили всплывший слой и "пробку" вновь суспендировали в воде для инъекций. (В некоторых Примерах для удаления ДМСО использовали фильтры Миллипор (Millipore) или АГ Текнолоджи (AG Technology), использующие тангенциальный поток.

Затем к дисперсии добавляли водный раствор носителя и дисперсию подвергли гомогенизации при помощи гомогенизатора УЛЬТРА ТАРРЕКС (ULTRA TUREX), работающего при скорости 10000об/мин и при комнатной температуре. Продукты затем подвергли процессу леофилизации, используя описанный выше способ.

Таблица

Примеры	1	2	3	4	5	6	7	8
9-АК	0,4мг	0,4мг	0,4мг	0,4мг	0,4мг	0,4мг	0,2мг	0,2
ДМСО	0,01мл	0,01мл	0,01мл	8,7мл	8,7мл	10мл	5мл	5м
ДМФХ	26мг	24,2мг	3,0мг	22,4мг	22,4мг	22,4мг	11,2мг	8м
ДМФГ	11,3мг	10,4мг	1,25мг	9,6мг	9,6мг	9,6мг	4,8мг	8м
Хлороформ	0,25мл	0,25мл	0,31мл	0,2мл	0,2мл	0,2мл	0,1мл	0,1
Маннитол	15,1мг	14,55мг	14мг	15мг	15мг	20мг	20мг	20
Цитрат натрия					8,9мг	8,9мг		
Лимонная кислота					14,7мг	14,7мг		
WF1								
Леофилизат	0,4мг/пробирка	0,4мг/пробирка	0,4мг/пробирка	0,2мг/пробирка	0,2мг/пробирка	2мг/пробирка	1мг/пробирка	

Леофилизат, полученный в Примере 1 подвергли испытанию на стабильность при 4°C, 27°C и 37°C. Исходный анализ показал, что каждая пробирка содержала 0,299мг 9-АК. Полученные результаты приведены в Таблице 2.

Таблица 2

	4°C	27°C	37°C
1 неделя	99,3	97,7	99,7

2 неделя	100,3	100,3	104,3
1 месяц	103,7	97,7	102,3
2 месяца	101	102,3	102,3
5 месяцев	106,4	105,7	104,7
7 месяцев	106,4	104,2	-

Результаты исследования не выявили признаков ухудшения свойств лиофилизата комплекса липид/камптотецин.

Пример 9

Опыты на животных показали-, что лиофилизаты 9-АК по настоящему изобретению проявляют противоопухолевую активность *in vivo*. Коллоидные дисперсии лиофилизата получали путем диспергирования 1мг лиофилизата по Примеру 6 в 10мл воды для инъекций. Дисперсии испытывали на противоопухолевую активность против ксенотрансплантата опухоли HT29 толстой кишки человека на атимичных мышинных самках. Использовали как метод внутривенного так и перорального введения. Перед химиотерапией вес ксенотрансплантатов увеличивали до приблизительно 200мг. Размер опухоли определяли по ее объему. Опыты сравнивали основываясь на времени (дни) по отношению к трем удвоениям размера опухоли (ВДУРО). Полученные результаты приведены в Таблице 3. В период первого курса лечения составы отличались высоким уровнем содержания цитрата и это привело к высокой смертности, вызванной носителем, при больших дозах введения лекарства внутривенно.

Композиции для перорального приема, вводимые животным по графику 2Д x 14, не показали признаков токсичности.

Таблица 3

Активность 9-АК при внутривенном и пероральном введении против ксенотрансплантата HT29

График приема	Доза мг/кг	ПКД	
		ВДУРО	Летальные случаи
Болюс внутривенно 4 X 6 (Q4Dx6) (6 доз)	0	26,8	0
	1,8	34,2	0
	2,7	38,9	2 ^a
	4,0	25,3	6 ^a
Болюс внутривенно 1 X 4 (Qdx4) Дни 12,19,26 (12 доз)	0	26,3	0
	0,9	35,4	0
	1,33	46,4 ^c	2 ^b
	2,0	50,9	7 ^b
Перорально 2 X 4 (Q2DX14)	0	27,0	0
	0,67	35,6	0
	1,0	33,7	0
	1,5	42,8	0

ПКД = препарат в форме коллоидной дисперсии (липидный состав); ВДУРО = время (дни) x 2 удвоения размера опухоли.

Начало лечения: 12 день для внутривенного введения; 13 день для перорального приема; N=10/группа.

а Первая доза ПКД содержала цитратный буфер. Большинство смертных случаев было вызвано носителем. Вторая и остальные дозы не содержали цитрата.

б Препарат, введенный в течение первого курса лечения, содержал цитратный буфер. Препараты, введенные в течение второго и третьего курса, не содержали цитрата.

с 1 частичный регресс.

После подробного описания изобретения и предпочтительных вариантов его осуществления следует отметить, что возможны его модификации и изменения, которые не выходят за рамки формулы изобретения, которая приведена ниже.