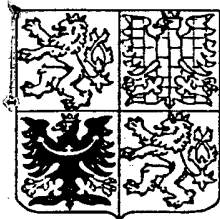


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLUVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 2349-94

(13) A3

6(51)

A 61 K 31/19

(22) 26.09.94
(32) 29.09.93
(31) 93/128026
(33) US
(40) 12.04.95

(71) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, Princeton, NJ,
US;

(72) Agharkar Shreerham Narahari, Fayetteville, NY, US;
Gogate Uday S., East Syracuse, NY, US;
Cavanak Thomas, Biel-Benken, CH;

(54) **Stabilizovaný farmaceutický přípravek
a stabilizační rozpouštědlo**

(57) Stabilizovaný farmaceutický přípravek obsahující paklitaxel, teniposid, kamptothecin nebo jiné antineoplastické činidlo, které může podléhat degradaci v průběhu skladování, se vyrábí za použití rozpouštědlového systému s nízkým obsahem karboxylátového aniontu. Tímto rozpouštědlovým systémem je směs ethanolu a polyoxyethylovaného ricinového oleje. Polyoxyethylovaný ricinový olej se upravuje kyselinou nebo stykem s oxidem hlinitým za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu v rozpouštědle. Nízký obsah karboxylátového aniontu v rozpouštědle zajišťuje prodlouženou skladovatelnost a nižší množství vedlejších produktů degradace.

Stabilizovaný farmaceutický přípravek a stabilizační rozpouštědlo

Oblast techniky

Vynález se týká rozpouštědlového systému, který se hodí pro výrobu stabilizovaného injekčního koncentrátu obsahujícího farmaceutické činidlo. Zejména se vynález týká stabilizovaného injekčního koncentrátu, který obsahuje upravený rozpouštědlový systém se sníženým obsahem karboxylátového aniontu a způsobu stabilizace farmaceutického přípravku.

Dosavadní stav techniky

Farmaceutické přípravky obvykle vyžadují vhodné rozpouštědlo nebo nosičový systém pro dispergaci účinného činidla, aby bylo možno takový přípravek podávat pacientovi. Pro vznik použitelného injekčního přípravku, musí být rozpouštědlo obvykle schopno solubilizovat nebo dispergovat terapeuticky účinné množství účinného činidla. Navíc musí být rozpouštědlový systém kompatibilní s účinným činidlem a musí být netoxický pro pacienta.

Četná farmaceutická činidla nejsou dostatečně rozpustná v žádném rozpouštědle, což znemožňuje výrobu účinných přípravků. Pro překonání nevýhod nebo omezení rozpouštědel při solubilizaci účinného činidla se někdy používá směs dvou nebo více rozpouštědel. Tyto "ko-rozpouštědlové systémy" jsou vhodné pro solubilizaci mnoha farmaceutických činidel, která by jinak nebylo možno solubilizovat ani dispergovat v nosičovém systému.

Jako jeden příklad ko-rozpouštědlového systému je možno uvést směs polárního rozpouštědla a neiontového

rozpouštědla, jako je směs polyethylenglykolu a výrobku Cremophor EL. Cremophor EL je kondenzačním produktem ricinového oleje a ethylenoxidu a jedná se o výrobek firmy BASF. Jako jiný vhodný ko-rozpouštědlový systém pro mnohá farmaceutická činidla je možno uvést směs ethanolu a Cremophoru EL v poměru 50:50. Přestože mohou být tyto ko-rozpouštědlové systémy účinné při solubilizaci mnoha sloučenin, nejsou prosté nevýhod. Tak například je známo, že ko-rozpouštědlový systém, který se skládá z ethanolu a Cremophoru EL, způsobuje po zředění infusními roztoky vznik částicové látky. U některých přípravků vzniká kromě toho při dlouhodobém skladování vláknitá sraženina neznámého složení. Obecně se předpokládá, že tyto sraženiny jsou tvořeny vedlejšími produkty rozkladu buď složek rozpouštědla nebo solubilizovaného činidla.

V přihlášce WO 91/02531 (datum publikace 7. 3. 1991) je popsán Cremophor jako látka, která odstraňuje fenotyp resistance vůči mnoha léčivům u nádorových buněk, aniž by měnila citlivost rodičovské buněčné linie vůči léčivu. Bylo rovněž publikováno, že Cremophor zvyšuje hemopoetickou (krvetvornou) rekonstituční schopnost a/nebo že udržuje hemopoetickou rekonstituční schopnost po perturbaci kostní dřeně za účelem ochrany pacienta při záření a/nebo při chemoterapeutické léčbě rakoviny.

Jako další příklad farmaceutického přípravku obsahujícího ko-rozpouštědlový systém je možno uvést Taxol, který obsahuje paklitaxel ve směsi ethanolu a Cremophoru EL v poměru 50:50. Paklitaxel je látka izolovaná z kůry tisu (*Taxus pacificus*), používaná pro léčbu pacientů trpících rakovinou. Ačkoliv je ko-rozpouštědlový systém na bázi ethanolu a Cremophoru EL účinný při solubilizaci dostatečného množství paklitaxelu, zjistilo se, že výsledné přípravky mají omezenou stálost při skladování. V průběhu

dlouhodobého skladování se může farmaceutická účinnost přípravku snížit až o 60 %.

Zjistilo se, že Cremophor EL obchodní kvality je sice v kombinaci s ethanolem, jako ko-rozpouštědlem, účinný při solubilizaci farmaceutických činidel, poskytuje však injekční přípravky, které jsou v průběhu dlouhodobého skladování nestálé. Zejména farmaceutické přípravky na bázi Taxolu v ko-rozpouštědlovém systému, který se skládá z bezvodého ethanolu a obchodně dostupného Cremophoru EL v poměru 50:50, vykazují po 12 týdnech skladování při 50 °C ztrátu účinnosti vyšší než 60 %. Ztráta účinnosti se vysvětluje rozkladem paklitaxelu v průběhu skladování.

Dřívější snahy o vyvinutí farmaceutických přípravků s obsahem různých ko-rozpouštědlových systémů, které by byly stále při skladování nebyly zcela úspěšné. Proto v tomto oboru existuje stále potřeba vyvinout ko-rozpouštědlový systém, kterého by bylo možno používat při výrobě stabilizovaných přípravků a zejména stabilizovaných injekčních přípravků obsahujících farmaceutické činidlo.

Podstata vynálezu

Vynález je zaměřen na rozpouštědlový systém a zejména na ko-rozpouštědlový systém, který by byl vhodný pro výrobu stabilizovaných injekčních přípravků obsahujících alespoň jedno farmaceutické činidlo. Úkolem vynálezu je tedy vyvinout způsob výroby rozpouštědla a způsob výroby stabilizovaných farmaceutických přípravků obsahujících toto nové rozpouštědlo.

Stabilizované farmaceutické přípravky vyrobené za použití rozpouštědlového systému podle vynálezu mají delší skladovatelnost než známé přípravky. Ko-rozpouštědlový

system podle vynálezu se obzvláště hodí pro použití u farmaceuticky účinných sloučenin, které podléhají rozkladu katalyzovanému karboxylátovými anionty. Obzvláštní zájem je zaměřen na antineoplastická činidla, jako je paklitaxel, teniposid, kamptohecin a jejich deriváty.

Rozpouštědlový systém podle vynálezu obsahuje neiontové solubilizační činidlo. Tento rozpouštědlový systém obvykle zahrnuje rozpouštědlo a solubilizační činidlo. V přednostním provedení tohoto vynálezu jsou solubilizačními činidly lipidy modifikované polyoxyalkylenovým řetězcem a polyalkylenoxydy, jako je polyethylenglykol a jejich deriváty. Solubilizačním činidlem může být kondenzační produkt alkylenoxidu a lipidu nebo mastné kyseliny. Přednostní rozpouštědlový systém obsahuje polyoxyethylovaný ricinový olej, jako je produkt prodáváný pod obchodním označením Cremophor EL. Cremophor EL se upraví tak, aby se v něm snížil obsah karboxylátového aniontu na dostatečně nízkou koncentraci, za účelem minimalizace rozkladu farmaceutického činidla, který je katalyzován karboxylátovými anionty. Obsah karboxylátového aniontu v Cremophoru EL se sníží buď tím, že se Cremophor EL uvede do styku s ložem oxidu hlinitého za účelem oddělení karboxylátových aniontů a jiných nečistot nebo přidávkem kyseliny, zejména minerální kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková nebo kyselina dusičná. Podle dalších provedení se na rozpouštědlo působí reakčním činidlem za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu nebo převedení karboxylátového aniontu na nereaktivní formu.

Výhod podle vynálezu se také dosahuje vyvinutím způsobu výroby stabilizovaného farmaceutického přípravku, který obsahuje přinejmenším jednu antineoplastickou sloučeninu a rozpouštědlo, které je schopno dispergovat tuto antineoplastickou sloučeninu, přičemž toto rozpouštědlo

obsahuje solubilizačně účinné množství polyoxyethylovaného ricinového oleje s dostatečně nízkým obsahem karboxylátového aniontu, aby se v podstatě zabránilo degradaci antineoplastické sloučeniny katalyzované karboxylátovým aniontem.

Dalších výhod podle tohoto vynálezu se dosahuje vyvinutím způsobu stabilizace farmaceutického přípravku obsahujícího farmaceutické činidlo zvolené ze souboru zahrnujícího paklitaxel a teniposid a rozpouštědlo obsahující ethanol a solubilizačně účinné množství alespoň jednoho solubilizačního činidla, jehož podstata spočívá v tom, že se rozpouštědlo upraví snížením obsahu karboxylátového aniontu na dostatečně nízkou úroveň, aby se v podstatě zabránilo degradaci antineoplastické sloučeniny katalyzované karboxylátovým aniontem.

Nevýhody a omezení až dosud známých injekčních přípravků a rozpouštědlových systémů jsou překonány předloženým vynálezem, který zajišťuje vhodný a účinný způsob výroby rozpouštědlového systému a způsob stabilizace farmaceutických přípravků vhodných pro injekční aplikaci. Tento vynález je především zaměřen na rozpouštědlový systém, který se hodí pro výrobu stabilizovaných farmaceutických přípravků a na způsob výroby a stabilizace farmaceutických přípravků.

S překvapením se zjistilo, že v průběhu skladování reaguje paklitaxel s ethanolem a že je tento rozklad paklitaxelu katalyzován karboxylovými anionty přítomnými v rozpouštědle. Zjistilo se, že snížení koncentrace karboxylátového aniontu v rozpouštědle se projevuje stabilizačním účinkem na farmaceutický přípravek. Nižší koncentrace karboxylátu se projevuje prodloužením skladovatelnosti přípravku

tím, že se snižuje rychlost rozkladu farmaceutického činidla a snižuje se rozsah tvorby vedlejších produktů rozkladu.

Tento rozpouštědlový systém má dostatečně nízký obsah nečistot, aby mohl uplatnit stabilizační účinek na farmaceutické přípravky. Výsledného farmaceutického přípravku, vyrobeného způsobem podle vynálezu, je možno používat při výrobě injekčních přípravků zředěním farmaceuticky vhodným nosičem nebo ředidlem. Vzniklé přípravky jsou dostatečně stálé, takže minimalizují rozklad účinné sloučeniny a snižují ztrátu účinnosti, k níž během skladování dochází. U zředěných přípravků nevznikají sraženiny, takže lze farmaceuticky účinné činidlo skladovat ve snadno použitelné formě.

V přednostním provedení tohoto vynálezu obsahuje farmaceutický přípravek přinejmenším jednu farmaceutickou sloučeninu, která má sklon k degradaci v průběhu skladování, přičemž rozkladná reakce je katalyzována karboxylátovými anionty. Přednostní farmaceutické sloučeniny vykazují antineoplastickou účinnost, jako například paklitaxel, který se prodává pod obchodním označením Taxol. Také se může použít různých analogů a derivátů Taxolu.

Taxol se připravuje jako injekční koncentrát, který obsahuje 6 mg/ml paklitaxelu ve směsi ethanolu a polyoxyetylovaného ricinového oleje v objemovém poměru 50:50. Polyoxyetylenovaný ricinový olej se prodává pod obchodním označením Cremophor EL. Paklitaxel je účinná látka, která se izoluje z kůry tisu (*Taxus pacificus*). Je známo, že paklitaxel vykazuje neoplastickou účinnost.

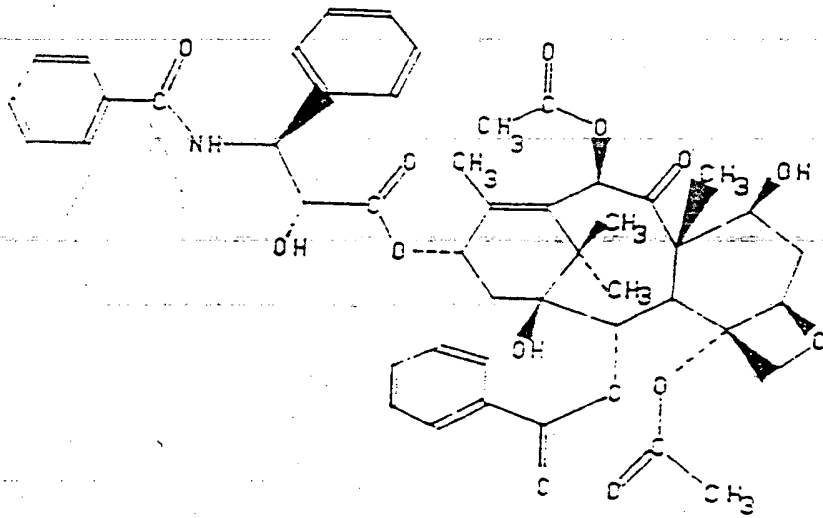
Další sloučeninou, která se hodí pro použití podle vynálezu a která vykazuje antineoplastickou účinnost je Teniposid. Teniposid je polosyntetický derivát podophyllo-

toxinu, jehož chemický název je 4-demethylepiodofylotoxin-9-(4,6-O-2-thenyliden- β -D-glukopyranosid). Teniposid a jeho analogy jsou dostupné z obchodních zdrojů a je možno je připravit způsobem popsáním v US patentu č. 3 524 844.

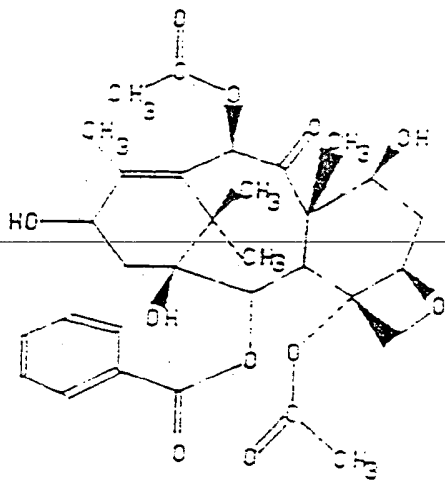
Dalším farmaceuticky vhodným činidlem je kamptothecin, jehož chemický název je 4-ethylhydroxy-1H-pyrano-[3',4':6,7,]indolizino[1,2-b]chinolin-3,14(4H,12H)-dion. Kamptothecin se izoluje ze dřeva kmene stromu "Chinese tree" a vykazuje protileukemickou a protinádorovou účinnost.

Z farmaceutických činidel je hlavní zájem zaměřen na ty, u nichž dochází k degradaci a ztrátě účinnosti v průběhu skladování. Rozpouštědlový systém a způsob podle vynálezu jsou obzvláště výhodné pro použití ve spojení s farmaceutickými činidly, která reagují s rozpouštědlem nebo která jsou v něm nestálá. Z tohoto hlediska jsou zajímavá především farmaceutická činidla obsahující esterovou vazbu, kterou je možno štěpit alkoholem za přítomnosti karboxylátových aniontů. Několik známých farmaceutických činidel vytváří po zředění a delším skladování sraženiny. Přestože se za zvláště zajímavá považují antineoplastická činidla, vhodná jsou i jiná farmaceutická činidla, u nichž při skladování dochází k degradaci. Taková farmaceutická činidla mohou alternativně vykazovat například antifungální nebo antibakteriální účinnost.

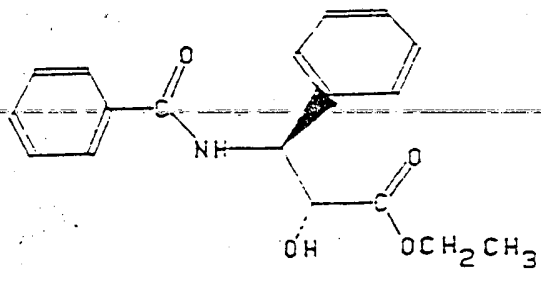
Paklitaxel se obvykle vyrábí v podobě koncentrátu nebo roztoku v nosiči, který se hodí pro injekce, při koncentraci 6 mg/ml. Jako nosiče se obvykle používá směs ethanolu a Cremophoru EL v objemovém poměru 50:50. Je známo, že účinnost paklitaxelu v průběhu skladování klesá. Paklitaxel má strukturu odpovídající vzorci I a HPLC ukazuje, že dochází k jeho degradaci na Baccatin III vzorce II a látku, která představuje ethylester postranního řetězce paklitaxelu, vzorce III.



(I)



(II)



(III)

V přednostním provedení se jako rozpouštědla používá ko-rozpouštědlové směsi obsahující alespoň jedno rozpouštědlo a solubilizační činidlo. Jako přednostní rozpouštědla je možno uvést alkoholy, jako je bezvodý ethanol a farmaceuticky vhodné polyoly, jako je polyethylenglykol. Přednostním solubilizačním činidlem je polyoxyetylovaný ricinový olej, jako je výrobek prodáváný pod obchodním označím Cremophor EL (výrobek firmy BASF). Ko-rozpouštědlová směs obsahuje přednostně asi 40 až 60 % objemových polyoxyetylovaného ricinového oleje, přičemž zbytek tvoří alkohol nebo polyol. V obzvláště výhodném provedení tohoto vynálezu tvoří ko-rozpouštědlovou směs směs bezvodého ethanolu a Cremophoru EL v objemovém poměru 50:50.

Ko-rozpouštědlová směs podle tohoto vynálezu přednostně obsahuje jako solubilizační činidlo neiontovou povrchově aktivní látku, přičemž největší přednost se dává Cremophoru EL. Cremophor EL je kondenzační produkt ricinového oleje s asi 20 až 40, přednostně 30 až 35 mol ethylenoxidu na mol ricinového oleje. Cremophor EL se může vyrábět způsobem popsáným v US patentu č. 3 070 499. Cremophor EL je také znám pod označením polyoxyethylenglyceroltriricinoleát nebo glycerolpolyethylenglykolricinoleát. Také se může použít biologických a chemických ekvivalentů nebo derivátů Cremophoru EL.

V alternativním provedení může neiontová povrchově aktivní látka nebo solubilizační činidlo zahrnovat jiné lipidy modifikované ethylenoxidem, hydroxylované oleje z loje, polysorbát 80, známý též pod označením Tween 80, polyoxyetylovanou 12-hydroxystearovou kyselinu, polyoxyetylované sorbitanestery mastných kyselin, estery polyethylenglykolu, estery polyethylenglykolu s mastnými kyselinami, blokové kopolymery ethylenoxidu a propylenoxidu, ethylenované ethery mastných alkoholů a oktylfenoxypoly-

ethoxyethanolové sloučeniny. Tato neiontová solubilizační činidla je možno vyrábět způsoby, které jsou dobře známé v tomto oboru, nebo mohou pocházet z obchodních zdrojů. Solubilizační činidlo může obsahovat také jiné kondenzační produkty alkylenoxidů, přestože lipidům modifikovaným alkylenoxidem se obvykle dává přednost. Jako příklady vhodných solubilizačních činidel je možno uvést PEG 400 a PEG 40-ricinový olej.

Obsah karboxylátového aniontu v rozpouštědle je možno snižovat řadou způsobů. Při prvním provedení tohoto vynálezu se Cremophor EL nebo jiné rozpouštědlo nechá projít standardní chromatografickou kolonou naplněnou oxidem hlinitým. Oxid hlinitý adsorbuje karboxylátové anionty a také jiné nečistoty a snižuje tak obsah karboxylátového aniontu v rozpouštědle.

Při alternativním provedení tohoto vynálezu se rozpouštědlo upravuje přidávkem stabilizačního množství kyseliny, za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu na dostatečně nízkou úroveň, aby v podstatě nedocházelo ke katalyzované degradaci farmaceutické sloučeniny. Kyselina se může k rozpouštědlu přidat před nebo po smísení s farmaceutickou sloučeninou. Obvykle se používá minerálních kyselin, jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina fluorovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina sírová a kyselina dusičná. Alternativně se může také použít organických kyselin, jako je kyselina octová. Organické kyseliny se obvykle nepovažují za příliš výhodné, poněvadž se mohou stát zdrojem karboxylátových iontů a tím ruší stabilizační účinek zpracování kyselinou. Kyselina se přednostně přidává v množství $5,6 \times 10^{-6}$ až $8,4 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ , vztaženo na 1 ml rozpouštědla. Účinná stabilizace přípravku se dosáhne za přidání kyseliny v množství odpovídajícím $7,0 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ /ml rozpouštědla.

Kyselina se přidává za účelem snížení obsahu karboxylátového iontu na hodnotu nižší než je asi $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu/ml rozpouštědla.

Roztoky Taxolu s obsahem $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu si zachovávají po 28 denním skladování při 50 °C obsah paklitaxelu odpovídající 94 % původní hodnoty. 1,0 gekvivalentu aniontů je neutralizováno 1,0 g H⁺/ekv.

Množství kyseliny přidané k rozpouštědлу bude záviset na množství neiontové povrchově aktivní látky přítomné v ko-rozpouštědlovém systému a na typu povrchově aktivní látky. Neiontové povrchově aktivní látky, které díky způsobu své přípravy nutně obsahují větší množství karboxylátových aniontových nečistot, budou obvykle vyžadovat pro snížení obsahu karboxylátového iontu vyšší množství kyseliny.

Podle dalších provedení tohoto vynálezu je možno rozpouštědlo zpracovávat jinými reakčními činidly, která jsou schopna snížit koncentraci karboxylátových aniontů v roztoku. Tak například je možno vytvářet nerozpustné soli karboxylátů nebo derivátů karboxylátů. Obvykle se karboxylátové anionty přednostně odstraňují pomocí reakčního činidla, které v přípravku nevytváří žádné sraženiny. Obvykle se dává přednost přidavku silné minerální kyseliny, poněvadž minerální kyseliny a výsledné karboxylové kyseliny jsou netoxické a snadno rozpustné v rozpouštědle. Když se karboxylátové anionty nechávají reagovat za podmínek, při nichž vzniká nerozpustná sraženina, měla by se tato sraženina z přípravku oddělovat, dříve než se tento přípravek podá pacientovi.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady, které uvádějí přednostní provedení tohoto vynálezu, mají pouze ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují. Odborníkům v tomto oboru je zřejmé, že pro dosažení stabilizačního účinku je možno vynález provádět různými způsoby.

Příklady provedení vynálezu

P ř í k l a d 1

V tomto příkladu jsou analyzovány vlastnosti Taxolu a paklitaxelu v roztoku ethanolu a Cremophoru EL. Použitý Taxol obsahuje 6 mg/ml paklitaxelu ve směsi Cremophoru EL a bezvodého ethanolu v objemovém poměru 50:50. První skupina vzorků (1 až 4) se připraví za použití různých várek upraveného Cremophoru EL a druhá skupina vzorků (5 až 7) se připraví za použití různých várek neupraveného obchodně dostupného Cremophoru EL. Upravený Cremophor EL se získá tak, že se nechá 100 kg Cremophoru EL projít standardní chromatografickou kolonou obsahující 19,5 kg oxidu hlinitého, prodáváného pod obchodním označením CAMAG. Pro porozumění příčině nestálosti Taxolu v neupraveném Cremophoru EL se každý vzorek analyzuje na Karl-Fischerovu vlhkost, obsah iontů draslíku, kyselost a obsah peroxidu. Výsledky těchto pozorování jsou uvedeny v tabulce I.

T a b u l k a 1

| Typ Cremophoru EL | Vzorek číslo | Vlhkost (Karl- Fischer) (%) | Obsah draslíku (ppm) | Hodnota kyselosti | Peroxidová hodnota |
|-------------------------|-----------------|--------------------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| upravený | 1 | 0,2 | <1 | 0,2 | 8 |
| | 2 | 0,3 | 2 | 0,3 | 8 |
| | 3 | 0,4 | 2 | 0,2 | 9 |
| | 4 | 0,8 | 4 | 0,3 | 3 |
| neupravený | 5 | 2,7 | 463 | 3,4 | 18 |
| | 6 | 2,6 | 482 | 1,6 | nest. |
| | 7 | 2,6 | nest. | 1,4 | 15 |

nest. = nestanoveno

Data v tabulce 1 ukazují, že existuje konsistentnost mezi obsahem vlhkosti, obsahem draslíku, hodnotou kyseliny a peroxidovou hodnotou, mezi várkami zpracovaného Cremophoru EL použitého ve vzorcích 1 až 4. Tato data rovněž ukazují konsistentně vyšší hodnoty obsahu vlhkosti, obsahu draslíku, hodnoty kyseliny a peroxidové hodnoty u nezpracovaného Cremophoru EL.

P ř í k l a d 2

Tento příklad se provádí pro demonstraci nestability Taxolu a paklitaxelu v ko-rozpouštědlové směsi obsahující Cremophor EL a pro stanovení povahy produktů rozkladu. Tento příklad se specificky provádí za účelem zjištění, zda vysoké hodnoty vlhkosti, obsahu draslíku, hodnoty kyseliny a peroxidové hodnoty u neupraveného

Cremophoru EL, uvedené v příkladu 1, mají nějaký vztah k rychlosti rozkladu a stálosti účinnosti Taxolu.

Vzorky 8 až 21 se vyrobí rozpuštěním 6 mg paklitaxelu v 1 ml směsi upraveného Cremophoru EL a bezvodého ethanolu v objemovém poměru 50:50. Cremophor EL ve vzorcích 8 až 21 se upravuje způsobem popsaným v příkladu 1. Vzorek 22 (kontrolní vzorek) se vyrobí za použití neupraveného Cremophoru EL ve směsi s bezvodým ethanolem o objemovém poměru 50:50 obsahující paklitaxel v množství 6 mg/ml. Vzorky 8 až 20 se vždy smíchají se složkami uvedenými v tabulce 2 a 3. Třímililitrové alikvotní části zkoušených vzorků se umístí do šestimililitrových lahvíček z flintového skla typu I. Lahvičky se uzavřou zátkami s teflonovým obloženíem typu West 4455/45 a uloží na 4 týdny do prostoru o teplotě 50 °C. Potom se obsah lahvíček analyzuje HPLC na koncentraci Taxolu. HPLC se provádí za následujících podmínek:

| | |
|------------------------|--|
| kolona | Jones Cyano, velikost částic 5 μ , 25 cm x 4,6mm (vnitřní průměr) |
| vlnová délka detektoru | 227 nm |
| mobilní fáze | 35 % acetonitrilu a 65 % 20mM acetátového pufru (pH 4) |
| průtok | 1,5 ml/min |
| ředidlo | mobilní fáze |
| koncentrace vzorku | 0,05 mg/ml |
| vstřikovací objem | 20 μ l |
| retenční doba | Taxol 10,5 minuty |

Hodnota pH u každého vzorku se stanoví po zředění vodou v poměru 1:10. Naměřené hodnoty peroxidové hodnoty (EP metoda), hodnoty kyseliny (USP metoda), obsahu vlhkosti a obsahu draslíku jsou zřejmé z tabulek 2 a 3.

T a b u l k a 2

| Vzorek číslo | Přidaná složka | Vlhkost Karl-Fischer (%) | Počáteční pH ^a | Po 28 dnech skladování při 50 °C zbývající Taxol (%) | pH |
|-----------------|--|--------------------------------|------------------------------|--|-----|
| 8 ^b | 4 % H ₂ O ₂ roztok | 5,5 | 4,6 | 94,9 | 3,6 |
| 9 ^c | 10 % H ₂ O ₂ roztok | 9,6 | 4,6 | 96,8 | 3,5 |
| 10 ^d | 4 % vody | 5,8 | 5,0 | 94,5 | 4,2 |
| 11 ^e | kyselina octová (1,5 mg/ml) | 2,6 | 3,8 | 94,1 | 4,1 |
| 12 ^f | žádná (kontrolní) | 2,6 | 4,4 | 95,5 | 4,5 |

Poznámky:

a po zředění vodou pro injekce v poměru 1:10

b peroxidová hodnota = 232

c peroxidová hodnota = 652

d peroxidová hodnota = 14

e hodnota kyseliny = 1,2

f hodnota kyseliny = 0,5, peroxidová hodnota = 4

T a b u l k a 3

| Vzorek číslo | Přidaná složka | Obsah iontů K ⁺ (ppm) | Počáteční pH ^a | Po 28 dnech skladování při 50 °C zbývající Taxol (%) | pH |
|--------------|--|----------------------------------|---------------------------|--|-----|
| 13 | CH ₃ COOK 1,26 g/l | 530 | 5,6 | 19,3 | 5,1 |
| 14 | KCl 1,0 g/l | 551 | 6,0 | 98,8 | 4,7 |
| 15 | NaCl 1,25 g/l | 4 | 6,3 | 96,8 | 4,9 |
| 16 | CH ₃ COONH ₄ 1,0 g/l | 4 | 5,8 | 63,7 | 4,7 |
| 17 | CH ₃ COONa 1,04 g/l | 5 | 6,1 | 5,8 | 5,5 |
| 18 | CH ₃ CH ₂ COOK 1,44 g/l | 468 | 5,4 | 15,2 | 5,1 |
| 19 | linolelaidová kyselina (LA) 2,0 g/l | 5 | 6,4 | 99,5 | 5,4 |
| 20 | K sůl LA 2,28 g/l | 150 | 6,3 | 52,8 | 6,2 |
| 21 | žádná (kontrolní) | <2 | 4,4 | 95,5 | 4,5 |
| 22 | použit neupravený Cremophor EL | ~240 | 4,6 | 86,5 | 4,8 |

Poznámky:

^a po zředění vodou pro injekce v poměru 1:10

Jak je zřejmé z tabulky 2, stabilitu Taxolu v podobě roztoku ve směsi bezvodého ethanolu a Cremophoru EL v poměru 50:50 neovlivní přídavek peroxidu vodíku, vody nebo kyseliny octové, což ukazuje, že nestabilita Taxolu nemá vztah k peroxidové hodnotě, obsahu vlhkosti nebo hodnotě kyseliny Cremophoru EL. Všechny vzorky 8 až 11 vykazují srovnatelný pokles účinnosti Taxolu, bez ohledu na přidané činidlo. Ve všech vzorcích 8 až 11 leží údaj "zbývající Taxol", který odráží množství paklitaxelu ve vzorcích, v rozmezí od 94,1 do 96,8 %, ve srovnání s hodnotou 95,5 % u kontrolního vzorku 12.

Vzorek 13 z tabulky 3, který obsahuje octan draselný, je méně stabilní než kontrolní vzorek 21, který neobsahuje žádnou přidanou složku. Vzorek 14 obsahující chlorid draselný je srovnatelný s kontrolním vzorkem 21. Tato data ukazují, že stabilita Taxolu není ovlivněna přítomností draslíkových iontů, nýbrž na ni má nepříznivý vliv spíše aniontová forma karboxylových kyselin. Vzorek 16 obsahující octan amonný, vzorek 17 obsahující octan sodný, vzorek 18 obsahující propionát draselný a vzorek 20 obsahující linolelaidát draselný je vždy méně stabilní než kontrolní vzorek 22. Naproti tomu stabilita vzorku 11 obsahujícího kyselinu octovou a vzorku 19 obsahujícího kyselinu linolelaidovou je srovnatelná se stabilitou kontrolního vzorku 22, což ukazuje, že karboxylové kyseliny v neionizované formě neovlivňují stabilitu Taxolu. Také vzorek 22 obsahující neupravený Cremophor EL je méně stabilní než kontrolní vzorek 21 obsahující upravený Cremophor EL. HPLC všech těchto vzorků ukazuje, že degradačními produkty jsou Baccatin III a ethylester taxolového postranního řetězce.

P ř í k l a d 3

Tento příklad ukazuje stabilizační účinek kyselin přidaných ke vzorkům Taxolu s obsahem neupraveného Cremophoru EL. Vzorky v tomto příkladu se připraví z Taxolu obsahujícího paklitaxel v množství 6 mg/ml ve směsi bezvodého ethanolu a neupraveného obchodně dostupného Cremophoru EL v objemovém poměru 50:50. Jak je ukázáno v tabulce 4, vzorky 23 až 28 se mísí s kyselinou chlorovodíkovou, vzorek 29 s kyselinou octovou a vzorek 30 s kyselinou dusičnou. Vzorek 31 je kontrolní a neobsahuje žádnou kyselinu. Vzorek 32 obsahující kyselinu octovou a kontrolní vzorek 33, k němuž se žádná kyselina nepřidává, se také připraví z neupraveného Cremophoru EL.

Vzorky se rozdělí na třímililitrové alikvotní části a umístí do pětímililitrových lahvíček z flintového skla typu I. Lahvičky se uzavřou zátkami s povlakem fluorované pryskyřice Daikyo #713 a uloží na 56 dnů do prostoru o teplotě 50 °C. Potom se obsah lahvíček analyzuje HPLC na koncentraci paklitaxelu (Taxolu). HPLC se provádí za následujících podmínek:

| | |
|------------------------|--|
| kolona | Jones Cyano, velikost částic 5 μ , 25 cm x 4,6mm (vnitřní průměr) |
| vlnová délka detektoru | 227 nm |
| mobilní fáze | 35 % acetonitrilu a 65 % 20mM acetátového pufru (pH 4) |
| průtok | 1,5 ml/min |
| ředitel | mobilní fáze |
| koncentrace vzorku | 0,05 mg/ml |
| vstřikovací objem | 20 μ l |
| retenční doba | paklitaxel asi 10,5 minuty |

Data uvedená v tabulce 4 ukazují, že stabilizační účinek kyseliny stoupá se vzrůstajícím množstvím kyseliny. Tyto výsledky jsou konstantní s premisou, že k degradaci Taxolu dochází díky přítomnosti karboxylátových aniontů a nikoliv kyseliny. Tato data dále ukazují, že minerální kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková a kyselina dusičná, jsou lepšími stabilizačními činidly, poněvadž, když se kyselina přidá v množství zajišťujícím přítomnost $5,6 \times 10^{-6}$ až $8,4 \times 10^{-6}$ g H⁺/ml, zůstává ve vzorku po 56 dnech přítomno více než 97 % Taxolu. Minerální kyseliny vykazují vyšší stabilizační účinek než kyselina octová, i když se kyselina octová přidá ve vyšším množství než je 70×10^{-6} g H⁺/ml. Důvodem těchto výsledků je, že minerální kyseliny jsou ve srovnání s organickými kyselinami silnější při neutralizaci karboxylátových aniontů. Kromě toho, kyselina octová, jakožto zdroj karboxylátových aniontů, může v určité míře přispívat k degradaci paklitaxelu. Množství paklitaxelu zbývající ve vzorcích 26 a 30, které je vyšší než 100 %, je důsledkem analytických variací při měřeních.

T a b u l k a 4

| Injekce Taxolu vzorek číslo | Přidaná kyselina (H ⁺ g/ml) | Počáteční pH ^a | Po 56 dnech skladování při 50 °C zbývající paklitaxel (%) | pH ^c |
|--------------------------------------|--|------------------------------|--|-----------------|
| 23 ^a | HCl (3,5 x 10 ⁻⁶) | 5,1 | 62,8 | 4,5 |
| 24 ^a | HCl (5,6 x 10 ⁻⁶) | 3,9 | 98,1 | 3,8 |
| 25 ^a | HCl (6,3 x 10 ⁻⁶) | 3,8 | 97,9 | 3,8 |
| 26 ^a | HCl (7,0 x 10 ⁻⁶) | 3,8 | 100,9 | 3,6 |
| 27 ^a | HCl (7,7 x 10 ⁻⁶) | 3,6 | 99,3 | 3,6 |
| 28 ^a | HCl (8,4 x 10 ⁻⁶) | 3,6 | 99,1 | 3,6 |
| 29 ^a | CH ₃ COOH (7,0 x 10 ⁻⁶) | 4,4 | 69,5 | 4,5 |
| 30 ^a | HNO ₃ (7,0 x 10 ⁻⁶) | 3,7 | 100,4 | 3,8 |
| 31 ^a | kontrolní (kyselina se nepřidá) | 5,5 | 49,0 | 5,0 |
| 32 ^b | CH ₃ COOH (70 x 10 ⁻⁶) | 3,7 | 87,8 | 3,7 |
| 33 ^b | kontrolní (kyselina se nepřidá) | 6,3 | 22,6 | 5,5 |

Poznámky:

- a v těchto roztocích se používá neupravený Cremophor EL, výrobek firmy BASF, várka č. 98-2384
- b v těchto roztocích se používá neupravený Cremophor EL, výrobek firmy BASF, várka č. 14-1213
- c po zředění vodou pro injekce v poměru 1:10

Vzorky 34A, 34B, 35A, 35B, 36A a 36B, které jsou uvedeny v tabulce 5, se připraví za použití různých várek Cremophoru, aby se ukázala konsistentnost stabilizačního působení minerálních kyselin. Každý připravený vzorek obsahuje 6 mg/ml paklitaxelu ve směsi bezvodého ethanolu a neupraveného Cremophoru EL v poměru 50:50. Vzorky 34A, 35A a 36A se připraví stejným způsobem jako vzorky 23 až 28, přičemž obsahují kyselinu chlorovodíkovou v množství, které postačuje pro zajištění obsahu vodíkových iontů $7,0 \times 10^{-6}$ g H⁺/ml. Kontrolní vzorky 34B, 35B a 36B neobsahují žádnou přidanou kyselinu. Tyto vzorky se skladují v uzavřených lahvičkách po dobu 56 dnů při 56 °C. Množství zbývajících paklitaxelu se stanoví HPLC a je uvedeno v tabulce 5.

T a b u l k a 5

| Cremophor EL (neuprav.) | Přidaná kyselina | Počáteční pH ^a | Po 56 dnech skladování při 50 °C | |
|-------------------------------|------------------------|------------------------------|--|-----------------|
| | | | zbývající paklitaxel (%) | pH ^a |
| 34A | HCl | 4,0 | 98,4 | 3,9 |
| 34B | kontrolní ^b | 6,1 | 25,0 | 5,4 |
| 35A | HCl | 3,9 | 97,8 | 4,0 |
| 35B | kontrolní ^b | 6,3 | 22,6 | 5,5 |
| 36A | HCl | 3,8 | 100,9 | 3,6 |
| 36B | kontrolní ^b | 5,5 | 49,0 | 5,0 |

Poznámky:

^a po zředění vodou pro injekce v poměru 1:10

^b ke kontrolním roztokům se nepřidává žádná kyselina

Data z tabulky 5 ukazují konsistenční stabilizační účinek minerálních kyselin, který se projevuje tím, že po 56 dnech zůstane ve vzorcích více než 97 % paklitaxelu, ve srovnání s kontrolními vzorky, v nichž po této době zůstane jen 50 % paklitaxelu.

Data z příkladů 2 a 3 ukazují stabilizační účinek zpracování Cremophoru EL kontaktováním s oxidem hlinitým

nebo zpracováním pomocí kyseliny, za účelem snížení obsahu karboxylátových iontů v rozpouštědle. Odborníkům v tomto oboru je zřejmé, že způsobu snižování obsahu karboxylátových aniontů je možno použít i u jiných rozpouštědel a solubilizačních činidel. Taxolu se používá v přednostních provedeních tohoto vynálezu, která byla ilustrována výše, aby bylo možno dokumentovat zvýšenou stálost při skladování vyplývající ze stabilizačního působení kyselin a snížení obsahu karboxylátového aniontu. V jiných provedeních tohoto vynálezu se může používat dalších bioaktivních činidel, které mohou podléhat degradaci způsobené karboxylátovým aniontem.

2597 67
X

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Rozpouštědlo, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje kondenzační produkt alkylenoxidu, přičemž toto rozpouštědlo má dostatečně nízký obsah karboxylátového aniontu, že v podstatě zabraňuje rozkladu farmaceutického činidla.

2. Rozpouštědlo podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že jeho obsah karboxylátového aniontu je nižší nebo rovný $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu na ml.

3. Rozpouštědlo podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že kondenzačním produktem je kondenzační produkt alkylenoxidu a lipidu.

4. Rozpouštědlo podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , že kondenzačním produktem je polyoxyetylovaný ricinový olej.

5. Rozpouštědlo podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , že rozpouštědlem je polyethoxylovaná 12-hydroxystearová kyselina.

6. Rozpouštědlo podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že dále zahrnuje alkohol.

7. Rozpouštědlo podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m , že alkohol je zvolen ze souboru zahrnujícího ethanol a polyethylenglykol.

8. Stabilizovaný přípravek, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje alespoň jednu farmaceutickou sloučeninu a rozpouštědlo schopné dispergovat nebo

solubilizovat tuto farmaceutickou sloučeninu, přičemž rozpouštědlo zahrnuje účinné množství solubilizačního činidla, jehož obsah karboxylátového aniontu je dostatečně nízký, že to zabraňuje katalyzované degradaci farmaceutické sloučeniny.

9. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že solubilizačním činidlem je lipid modifikovaný alkylenoxidem.

10. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že rozpouštědlem je směs alkoholu a polyoxyetylovaného ricinového oleje.

11. Přípravek podle nároku 10, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že rozpouštědlem je směs ethanolu a polyoxyetylovaného ricinového oleje v objemovém poměru přibližně 50:50.

12. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že farmaceutickou sloučeninou je anti-neoplastická sloučenina zvolená ze souboru zahrnujícího teniposid, paklitaxel, kamptothecin a jejich deriváty.

13. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že farmaceutickou sloučeninou je sloučenina, která může podléhat degradaci za přítomnosti karboxylátových aniontů.

14. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í - c í s e t í m , že obsah karboxylátového aniontu v rozpouštědle je nižší nebo rovný $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu na ml rozpouštědla.

15. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že rozpouštědlo obsahuje účinné
množství kyseliny pro udržení obsahu karboxylátového aniontu
na hodnotě nižší nebo rovné $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu
karboxylátového aniontu na ml rozpouštědla.

16. Přípravek podle nároku 15, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že kyselinou je minerální kyselina.

17. Přípravek podle nároku 15, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že kyselina je zvolena ze souboru
zahrnujícího kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovo-
díkovou, kyselinu jodovodíkovou, kyselinu fluorovodíkovou,
kyselinu sírovou a kyselinu dusičnou.

18. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že solubilizačním činidlem je poly-
oxyethylovaný ricinový olej, tedy kondenzační produkt
ricinového oleje a 20 až 40 mol ethylenoxidu na mol
ricinového oleje.

19. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že rozpouštědlo dále zahrnuje minerální
kyselinu v množství zajišťujícím přibližně $5,6 \times 10^{-6}$ až
 $8,4 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ na ml rozpouštědla.

20. Přípravek podle nároku 8, v y z n a č u j í -
c í s e t í m , že solubilizační činidlo je zvoleno
ze souboru zahrnujícího polyoxyethylované lipidy, polyoxy-
ethylovanou 12-hydroxystearovou kyselinu a polyethylen-
glykol.

21. Způsob výroby stabilizovaného přípravku,
v y z n a č u j í c í s e t í m , že se vyrobí roz-
pouštědlo zahrnující polyoxyethylovaný ricinový olej,

rozpouštědlo se upraví za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu a v rozpouštědle se disperguje anti-neoplastická sloučenina, přičemž rozpouštědlo má obsah karboxylátového aniontu dostatečně nízký, že to zabraňuje katalyzované degradaci neoplastické sloučeniny.

22. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že rozpouštědlo obsahuje alkohol zvolený ze souboru zahrnujícího ethanol a polyethylenglykol.

23. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že rozpouštědlem je směs ethanolu a polyoxyethylovaného ricinového oleje přibližně v objemovém poměru 50:50.

24. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že antineoplastická sloučenina je zvolena ze souboru zahrnujícího teniposid, paklitaxel, kamptothecin a jejich deriváty.

25. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň úpravy zahrnuje kontaktování polyoxyethylovaného ricinového oleje s oxidem hlinitým za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu v rozpouštědle.

26. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že rozpouštědlo vykazuje obsah karboxylátového aniontu nižší než $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu na ml rozpouštědla.

27. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň úpravy zahrnuje přidavek kyseliny v množství zajišťujícím dodání alespoň $5,6 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ na ml rozpouštědla.

28. Způsob podle nároku 21, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň úpravy zahrnuje přidavek kyseliny v množství zajišťujícím dodání přibližně $5,6 \times 10^{-6}$ až $8,4 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ na ml rozpouštědla.

29. Způsob podle nároku 28, v y z n a č u j í c í s e t í m , že kyselinou je minerální kyselina.

30. Způsob podle nároku 28, v y z n a č u j í c í s e t í m , že kyselina je zvolena ze souboru zahrnujícího kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou, kyselinu jodovodíkovou, kyselinu fluorovodíkovou, kyselinu sírovou, kyselinu dusičnou a kyselinu octovou.

31. Způsob stabilizace farmaceutického přípravku obsahujícího kondenzační produkt alkylenoxidu a alespoň jedno farmaceutické činidlo, které se může degradovat za přítomnosti karboxylátových aniontů, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se tento přípravek přečistí za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu na množství, které je dostatečné k tomu, že v podstatě zabraňuje katalyzované degradaci farmaceutického činidla.

32. Způsob podle nároku 31, v y z n a č u j í c í s e t í m , že farmaceutický přípravek zahrnuje ethanol a polyoxyetylovaný ricinový olej přibližně v objemovém poměru 50:50.

33. Způsob podle nároku 31, v y z n a č u j í c í s e t í m , že farmaceutické činidlo je zvoleno ze souboru zahrnujícího teniposid, paklitaxel, kamptothecin a jejich deriváty.

34. Způsob podle nároku 32, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň čištění zahrnuje přidavek kyseliny

k polyoxyetylovanému ricinovému oleji v množství snižujícím obsah karboxylátového aniontu za účelem zabránění degradace farmaceutického činidla.

35. Způsob podle nároku 34, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se kyselina přidává v množství zajišťujícím dodání přibližně $5,6 \times 10^{-6}$ až $8,4 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ na ml farmaceutického přípravku.

36. Způsob podle nároku 34, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se čištěním sníží obsah karboxylátového aniontu na hodnotu nižší než asi $0,6 \times 10^{-6}$ gekvivalentu karboxylátového aniontu na ml farmaceutického přípravku.

37. Způsob stabilizace farmaceutického přípravku obsahujícího farmaceutické činidlo zvolené ze souboru zahrnujícího paklitaxel, teniposid, kamptothecin a jejich deriváty a rozpouštědlo obsahující ethanol a solubilizačně účinné množství alespoň jednoho solubilizačního činidla, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se rozpouštědlo upraví za účelem snížení jeho obsahu karboxylátového aniontu na dostatečně nízkou úroveň, že to v podstatě zabraňuje degradaci farmaceutického činidla.

38. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m , že solubilizační činidlo je zvoleno ze souboru zahrnujícího polyoxyetylované lipidy, polyoxyetylovanou 12-hydroxystearovou kyselinu a polyethylenglykol.

39. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m , že solubilizačním činidlem je polyoxyetylovaný ricinovaný olej.

40. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m , že polyoxyetylovaným ricinovým olejem je

kondenzační produkt ricinového oleje a přibližně 20 až 40 mol ethylenoxidu na mol ricinového oleje.

41. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň úpravy spočívá v přidání kyseliny k rozpouštědлу, přičemž tato kyselina se přidává v množství zajišťujícím dodání $5,6 \times 10^{-6}$ až $8,4 \times 10^{-6}$ g iontu H^+ na ml farmaceutického přípravku.

42. Způsob podle nároku 38, v y z n a č u j í c í s e t í m , že stupeň úpravy spočívá v kontaktování rozpouštědla s oxidem hlinitým za účelem snížení obsahu karboxylátového aniontu pro zabránění degradace farmaceutického činidla.

~~MP-1602-94-Ho~~