

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **030671**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|---|---|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2018.09.28</p> <p>(21) Номер заявки
201600574</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2016.07.20</p> | <p>(51) Int. Cl. <i>A61K 9/19</i> (2006.01)
<i>A61K 31/7068</i> (2006.01)
<i>A61K 47/02</i> (2006.01)
<i>A61P 19/00</i> (2006.01)
<i>A61P 35/00</i> (2006.01)</p> |
|---|---|

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОСТНЫХ ПОРАЖЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

- | | |
|--|---|
| <p>(43) 2018.01.31</p> <p>(96) 2016000059 (RU) 2016.07.20</p> <p>(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ОСТЕРОС
БИМЕДИКА" (RU)</p> <p>(72) Изобретатель:
Иванова Екатерина Алексеевна (RU),
Карпейский Александр, Зиннен Шон
П., Каралли Лиза Лыни, Салуриалам
Рина Диана (US)</p> <p>(74) Представитель:
Пустовалова М.Л., Котлов Д.В. (RU)</p> | <p>(56) US-B2-9216204
RU-C2-2433822
REINHOLZ Monica M. et al. A promising approach for treatment of tumor-induced bone disease: Utilizing bisphosphonate derivatives of nucleoside antimetabolites. Bone, 2010, 47, p. 12-22, реферат, с. 13, с. 14, кол. 1, последний абзац, кол. 2, абзац 1
RU-C2-2525392
US-A1-20010041689</p> |
|--|---|

- (57) Настоящее изобретение относится к онкологии, а именно к новому лекарственному препарату и способу лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями. Для этого предлагается лекарственный препарат, представляющий собой лиофилизат для приготовления раствора для парентерального введения, включающий компоненты: фармацевтически приемлемую соль двухвалентного металла и 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль в молярном соотношении компонентов от 1:1 до 20:1. Способ лечения включает введение раствора лекарственного препарата по изобретению в виде внутривенных капельных инфузий в дозе от 0,01 до 5 мг/кг активного компонента на 1 кг массы пациента в виде внутривенных капельных инфузий. Лечение лекарственным препаратом по изобретению позволяет снизить метаболическую активность костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, до 100%.

030671
B1

030671
B1

Область техники

Изобретение относится к онкологии, а именно к новому лекарственному препарату и способу лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями.

Уровень техники

Метастатическое поражение костей - одно из частых проявлений злокачественных новообразований. Наиболее часто они сопровождают рак молочной железы, щитовидной железы, предстательной железы, почек и легких. Опухоли желудочно-кишечного тракта, рак яичников, меланомы, лимфомы хотя и реже, но также могут метастазировать в кости. Множественное опухолевое поражение костей является одним из основных проявлений миеломной болезни. Костные метастазы существенно отягчают состояние больных, вызывая боли, патологические переломы. При поражении позвоночника возникают симптомы компрессии спинного мозга с явлениями пареза либо паралича конечностей и тазовыми нарушениями. Первичные злокачественные новообразования костей встречаются относительно реже, к таким заболеваниям относятся, в частности, остеосаркома, саркома Юинга, хондросаркома, фибросаркома.

Цитарабин - препарат из группы антиметаболитов-аналогов пиримидиновых нуклеозидов, являющийся эффективным цитостатиком, применяемым в лечении злокачественных заболеваний, таких как миелоидный лейкоз, лимфогранулематоз, эритромиелоз, нейрорлейкемия, неходжкинские лимфомы. Однако его применение при лечении солидных опухолей и их метастазов ограничено из-за невозможности его доставки к мишени действия в необходимой для разрушения опухоли концентрации.

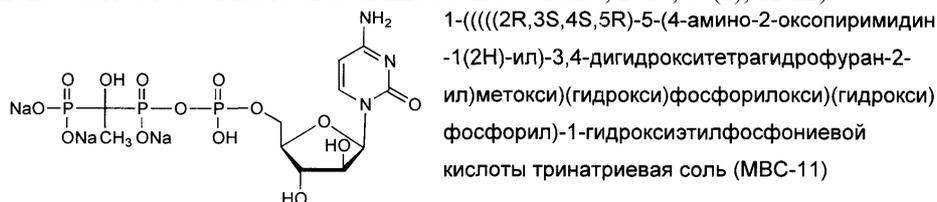
Бисфосфонаты являются синтетическими аналогами пирофосфатов и характеризуются наличием в структуре остова молекулы фосфор-углерод-фосфорной связи (по сравнению с фосфор-кислород-фосфорной связью в составе пирофосфата), которая обеспечивает их устойчивость к гидролизу, а также пригодность для лечения дегенеративных заболеваний костей. Химические и биологические свойства бисфосфонатов варьируются в зависимости от различных заместителей при атоме углерода в фосфор-углерод-фосфорной связи.

Бисфосфонаты обладают высокой химической аффинностью к гидроксипатиту, вследствие чего, связываясь на поверхности кости, ингибируют активность остеокластов - клеток, функцией которых является резорбция костной ткани. Бисфосфонаты также могут воздействовать на остеобласты, которые играют важную роль в образовании кости.

Таким образом, бисфосфонаты используются в клинической практике для ингибирования резорбции костной ткани при таких заболеваниях, как болезнь Педжета, остеопороз, метастатические поражения костной ткани, а также доброкачественная и злокачественная гиперкальциемия (см., например, патенты США US 5428181, US 7645459). Бисфосфонаты также используются для регулирования побочных эффектов противоопухолевой терапии, изменяя поверхность кости и ее микросреду, ингибируя специфические ферментативные цепочки и стимулируя апоптоз остеокластов и опухолевых клеток. Применение бисфосфонатов, помимо химио-, гормоно- и лучевой терапии, стало современным международным стандартом лечения больных с костными метастазами злокачественных опухолей, также как и лечения пациентов с множественной миеломой. Однако бисфосфонаты не оказывают прямого цитостатического воздействия на клетки опухоли в фармакологически приемлемых концентрациях.

Доставка химиотерапевтического агента в необходимой для разрушения опухоли концентрации в костную ткань является одной из нерешенных проблем в лечении костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями. Поиск сочетания максимальной эффективности и приемлемой токсичности - сложная задача для исследователей при разработке противоопухолевых препаратов.

Для решения такой задачи был разработан и синтезирован химическим путем конъюгат двух молекул: этидроната - бисфосфоната со свойствами, направленными на предотвращение разрушения кости, и цитарабина - цитотоксического агента, разрушающего клетки опухоли (патенты США US 8586781, US 9216204; Monica M. Reinholz et al., A promising approach for treatment of tumor-induced bone diseases: utilizing bisphosphonate derivatives of nucleoside antimetabolite // Bone., 2010, 47(1), 12-22).



Механизм действия лекарственной субстанции, представленной конъюгатом этидроната с цитарабином, основан на способности бисфосфонатной части молекулы направлять конъюгат к местам костной деструкции. Устойчивость конъюгата в кровотоке после внутривенного введения такова, что обеспечивает время, необходимое для высвобождения противоопухолевого агента преимущественно в кости. Попав к месту костной деструкции, лекарственная субстанция гидролизуется с образованием цитарабина и этидроната, каждый из которых воздействует на пораженные ткани: цитарабин подавляет рост самой опухоли, а бисфосфонат останавливает резорбцию костной ткани, вызываемую воздействием опухоли.

вых клеток, сосредоточенных на поверхности кости.

Однако применение конъюгата этидроната с цитарабином в клинической практике до настоящего времени невозможно из-за того, что конъюгат нестабилен как в кислой среде (что в совокупности с низкой биодоступностью осложняет его пероральное применение), так и в водных растворах (что осложняет его парентеральное применение).

Несмотря на многочисленные исследования в этой области, проблема целенаправленной доставки химиотерапевтического агента в необходимой для разрушения опухоли концентрации в костную ткань и эффективного лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, до сих пор является нерешенной.

Раскрытие изобретения

Задачей настоящего изобретения является создание лекарственного средства и разработка эффективного способа лечения пациентов с костными поражениями, вызванными злокачественными новообразованиями.

Указанная задача решается путем создания нового лекарственного средства для лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, представляющего собой лиофилизат для приготовления раствора для парентерального введения, включающего компоненты:

фармацевтически приемлемая соль двухвалентного металла и конъюгат этидроната с цитарабином (1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту) или его фармацевтически приемлемая соль, в молярном соотношении компонентов от 1:1 до 20:1.

В некоторых вариантах изобретения соль двухвалентного металла представляет собой магния хлорид или кальция хлорид.

В части вариантов изобретения фармацевтически приемлемая соль конъюгата этидроната с цитарабином представляет собой тринатриевую соль.

В некоторых вариантах изобретения молярное соотношение компонентов составляет от 1:1 до 12:1.

В некоторых частных вариантах изобретения молярное соотношение компонентов составляет от 1:1 до 2:1.

В некоторых наиболее предпочтительных вариантах изобретения молярное соотношение компонентов составляет 2:1.

Указанная задача также решается путем применения конъюгата этидроната с цитарабином для лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями.

Указанная задача также решается путем разработки способа лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, включающего парентеральное введение раствора лекарственного средства по изобретению в фармацевтически приемлемом растворителе.

В некоторых вариантах выполнения изобретения фармацевтически приемлемый растворитель представляет собой 5%-ный водный раствор декстрозы (глюкозы) и/или стерильную воду для инъекций.

В предпочтительных вариантах изобретения в качестве парентерального введения используют введение в виде внутривенной капельной инфузии.

В некоторых вариантах изобретения концентрация конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту в растворе для введения составляет от 0,01 до 5 мг/мл.

В некоторых частных вариантах изобретения концентрация конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту в растворе для введения составляет от 0,04 до 2 мг/мл.

В частных вариантах изобретения лекарственный препарат вводят в дозе от 0,5 до 5 мг конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту на 1 кг массы пациента в виде внутривенной капельной инфузии.

В некоторых частных вариантах изобретения пациенту вводят раствор лекарственного препарата в объеме 500 мл.

В некоторых вариантах выполнения изобретения инфузии проводят циклами: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом не менее 23 дней.

В некоторых частных вариантах изобретения инфузии проводят циклами: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом в течение 23-40 дней.

В некоторых других вариантах изобретения инфузии проводят циклами: 3 введения через день с последующим перерывом не менее 23 дней.

В некоторых других вариантах изобретения инфузии проводят циклами: не менее одного введения в неделю на протяжении 12 месяцев.

В некоторых других вариантах изобретения инфузии проводят циклами: не менее одного введения в месяц на протяжении 12 месяцев.

В некоторых вариантах изобретения количество циклов составляет от 1 до 12 на курс лечения.

В некоторых частных вариантах изобретения количество циклов составляет от 1 до 6 на курс лечения.

Указанная задача также решается путем применения конъюгата этидроната с цитарабином для про-

изводства лекарственного средства (препарата) для лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями.

Данная задача также решается путем получения лекарственного средства (препарата) для лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, включающего следующие этапы:

готовят водный раствор, содержащий конъюгат этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемую соль и стабилизатор, представляющий собой соль двухвалентного металла, причем молярное соотношение стабилизатора и конъюгата выбирают от 1:1 до 20:1;

проводят стерильную фильтрацию полученного раствора;

разливают полученный раствор в ёмкости для лиофилизации;

проводят лиофилизацию.

В частных случаях выполнения изобретения костное поражение, вызванное злокачественными новообразованиями, представляет собой первичный рак кости, например остеосаркому, саркому Юинга, хондросаркому, фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, гигантоклеточную опухоль кости или хордому.

В других частных вариантах изобретения костное поражение, вызванное злокачественными новообразованиями, представляет собой множественную миелому, метастатические поражения костной ткани, вызванные раком молочной, предстательной или щитовидной железы, легких, почек, желудочно-кишечного тракта, яичников, меланомой, лимфомой или злокачественными новообразованиями других тканей и органов.

При осуществлении изобретения достигаются следующие технические результаты:

разработана лекарственная форма конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли, обеспечивающая его стабильность при длительном хранении;

разработаны растворы для парентерального введения конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли, обладающие гидролитической и физической стабильностью при их применении;

разработано новое эффективное и безопасное лекарственное средство для лечения пациентов с костными поражениями, вызванными злокачественными новообразованиями;

разработан новый эффективный способ лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями.

Краткое описание рисунков

Фиг. 1. Влияние хлорида магния на образование арабинозилцитозин монофосфата (Ага-СМР) в водном растворе тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином (МВС-11). "Избыток" относится к соотношению $MgCl_2$: МВС-11 12:1.

Фиг. 2. Флаконы объемом 20 мл с лиофилизированной лекарственной формой; концентрация МВС-11 50 мг/мл, заполнение флакона 2 мл. Представленные фотографии иллюстрируют вид спекшегося материала: а) сжатие; б) свободное перемещение при переворачивании флакона; в) около 40% всех флаконов в этом эксперименте содержат растрескавшийся материал.

Фиг. 3. Флаконы объемом 20 мл с лиофилизированной лекарственной формой: а) концентрация МВС-11 20 мг/мл, заполнение флакона 5 мл; б) концентрация МВС-11 20 мг/мл, заполнение флакона 5 мл (слева) в сравнении с концентрацией МВС-11 50 мг/мл, заполнением флакона 2 мл (справа).

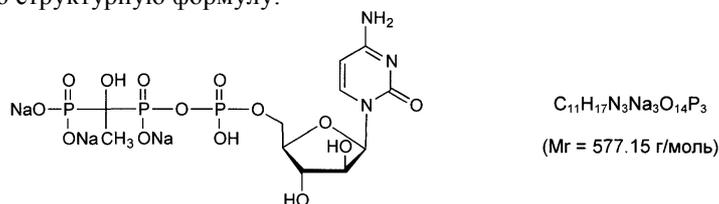
Фиг. 4. Схема получения партии готового лекарственного препарата по изобретению в размере 15 литров (~3000 флаконов с объемом заполнения $5,0 \pm 0,1$ мл).

Определения (термины).

Используемый в документе термин "МВС-11" относится к тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином.

"Конъюгат этидроната с цитарабином" (т.е. свободная кислота) представляет собой молекулу, полученную путем конъюгирования двух молекул - этидроната (1-гидроксиэтан-1,1-диил)-бис-(фосфониевой кислоты) и цитарабина (4-амино-1-бета-D-арабинофуранозил-2(1H)-пиримидинона; [1-[[[(2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1-ил)-3,4-дигидроксиоксолан-2-ил]метоксигидрокси-фосфорил]оксигидрокси-фосфорил]-1-гидроксиэтил]фосфониевой кислоты) и имеет название ИЮПАК 1-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил-1-гидроксиэтилфосфониевая кислота.

Тринатриевая соль конъюгата этидроната с цитарабином (МВС-11) представляет собой соединение, имеющее следующую структурную формулу:



и название ИЮПАК 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевой кислоты тринатриевая соль.

Используемый в документе термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к таким солям, которые, в рамках проведенного медицинского заключения, пригодны для использования в контакте с тканями человека и животных без излишней токсичности, раздражения, аллергической реакции и т.д. и отвечают разумному соотношению пользы и риска. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей по изобретению включают тринатриевую, динатриевую, моонатриевую, трилитиевую, дилитиевую, монолитиевую и другие.

Термин "соли двухвалентных металлов" в настоящем документе относится к неорганическим и органическим солям кальция и магния. Примером приемлемых и нетоксичных солей кислот могут служить соли, образованные неорганическими кислотами, такими как соляная, бромоводородная, или хлорная кислоты, или органическими кислотами, такими как уксусная, лимонная или малеиновая.

Термин "фармацевтически приемлемый растворитель", применяемый в данном документе, относится к растворителям, которые не являются токсичными или вредными для пациента при применении в композициях по данному изобретению, включая парентеральное применение способами, представленными в данном документе. Подразумевается, что растворитель должен быть способен растворить соответствующие количества лекарственной формы по изобретению, предпочтительно, при умеренном перемешивании при комнатной температуре. Примерами фармацевтически приемлемых растворителей в рамках настоящего изобретения могут быть стерильная вода для инъекций, 5% раствор декстрозы (глюкозы) в воде (D5W), физиологический раствор, в частности, изотонический физиологический раствор, и другие.

Под "парентеральным введением" в настоящем документе подразумевается внутривенное, внутриартериальное, внутримышечное, внутрикостное, внутрисуставное, подкожное или интратекальное введение. Введение может осуществляться путем инъекций малого объема (до 100 мл) или инфузией, в частности, путем внутривенной капельной инфузии (внутривенного капельного вливания)

Под "терапевтически эффективным количеством (терапевтической дозой)" подразумевается количество лекарственной субстанции (или лекарственного препарата), вводимой или доставляемой пациенту, при котором у пациента с наибольшей вероятностью проявится ожидаемый терапевтический эффект. Точное требуемое количество может меняться от субъекта к субъекту в зависимости от возраста, массы тела и общего состояния пациента, тяжести заболевания, методики введения препарата, комбинированного лечения с другими препаратами и т.п. В частности, для конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли терапевтически эффективными являются дозы от 0,001 до 50 мг/кг, более предпочтительно, от 0,001 до 25 мг/кг. При этом под "пациентом" подразумевают человека или животное, которому необходимо проведение лечения или профилактики заболевания с помощью конъюгата. Введение конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли пациенту, нуждающемуся в лечении, осуществляется в дозе, достаточной для достижения терапевтического эффекта.

При проведении лечения введение может осуществляться как разово, так и несколько раз в день, неделю (или любой другой временной интервал). Кроме того, лекарственное средство может вводиться в организм пациента ежедневно в течение определенного периода дней (например, 2-10 дней), после которого следует период без приема лекарственного средства (например, 1-30 дней). Схема лечения, а также длительность лечения также могут варьировать от пациента к пациенту и составлять от минимального курса лечения до проведения лечения курсами на протяжении всей жизни пациента.

Различные варианты изобретения относятся к новому лекарственному средству (препарату), представляющему собой стабилизированную лекарственную форму конъюгата этидроната с цитарабином по изобретению и его применению для лечения костного поражения, вызванного злокачественным новообразованием, в том числе первичного рака кости.

Варианты изобретения также представлены способами лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями. Способ включает парентеральное введение пациенту терапевтически эффективного количества лекарственного препарата по изобретению в виде раствора в фармацевтически приемлемом растворителе. В наиболее предпочтительных вариантах раствор лекарственного препарата по изобретению вводят в виде внутривенных капельных инфузий. В различных вариантах изобретения костные поражения, вызванные злокачественными новообразованиями, могут включать множественную миелому, остеосаркому, метастатические поражения костной ткани, вызванные раком молочной или предстательной или щитовидной железы или других тканей и органов. В других вариантах изобретения костные поражения, вызванные злокачественными новообразованиями, могут представлять собой первичный рак кости, в том числе, но не ограничиваясь ими, остеосаркому, саркому Юинга, хондросаркому фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, гигантоклеточную опухоль кости или хордому. В различных вариантах данного изобретения лекарственный препарат по изобретению может вводиться пациентам в сочетании с другими препаратами в различных режимах терапии, а также в сочетании с другими приемами терапии, такими как, например, лучевая терапия или хирургическое ле-

чение.

Данное изобретение также относится к набору, включающему лиофилизированную лекарственную форму конъюгата этидроната с цитарабином, содержащуюся в контейнере, водный раствор или 5% раствор декстрозы, встроенные фильтры. Лекарственная форма пригодна для парентерального введения эффективных доз конъюгата, а также является пригодной для инфузионного введения, т.е. для асептического соединения с внутривенными клапанами, трубками, деталями, линиями и т.п., или для транспортировки препарата между устройствами для инфузии.

Набор также может включать одну или больше лекарственных форм, упакованных вместе с инструкционными материалами, касающимися введения лекарственной формы, или с инструкционными материалами, включающими средства маркировки, например, этикетки, ярлыки, CD, DVD, кассеты с записью и тому подобное, описывающие применение лекарственной формы способом, одобренным правительственным регулирующим органом.

Таким образом, лекарственная форма в данном изобретении предоставляет одну или более единичных лекарственных доз, адаптированных к практике способа применения, включающих конъюгат этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли в подходящей концентрации в биологически совместимом носителе, упакованном для сохранения стерильности и для защиты активного ингредиента от распада.

Возможность объективного проявления технического результата при использовании изобретения подтверждена достоверными данными, приведенными в примерах, содержащих сведения экспериментального характера, полученными в процессе проведения исследований по методикам, принятым в данной области. Сущность изобретения поясняется рисунками.

Нижеследующие примеры приведены в целях иллюстрирования способа согласно настоящему изобретению и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения.

Подробное раскрытие изобретения

Для создания фармацевтических композиций, пригодных для парентерального введения, водный раствор готовой лекарственной формы препарата должен обладать стабильностью, обеспечивающей время, достаточное для его клинического приготовления, краткосрочного хранения и применения. Кроме этого, сама готовая форма должна обладать достаточной стабильностью при длительном хранении.

Известно, что обеспечение стабильности фармацевтических композиций при длительном хранении может быть достигнуто лиофилизацией. Проведенными исследованиями было выявлено, что введение солей двухвалентных металлов несколько повышает гидролитическую стабильность водных растворов конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемых солей. Однако ни один из вышеуказанных подходов не обеспечивает получения стабильной лекарственной формы конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли для парентерального введения. Комбинированное же использование этих двух подходов осложняется тем, что двухвалентные катионы обычно снижают температуру стеклования, что осложняет процесс лиофилизации. Кроме того, двухвалентные катионы являются причиной физической нестабильности (способствуют образованию осадка) восстановленных растворов лиофилизатов.

В результате проведенных исследований неожиданно было выявлено, что в случае применения солей двухвалентных металлов в растворах конъюгата этидроната с цитарабином или его фармацевтически приемлемой соли, эффект влияния двухвалентных катионов на получение стабильной лекарственной формы зависит от соотношения солей двухвалентных металлов и конъюгата в растворе для лиофилизации так, что оптимальным является соотношение стабилизатора и конъюгата по меньшей мере 1:1, более оптимальным - соотношение от 1:1 до 20:1, еще более оптимальным - от 1:1 до 12:1 и еще более оптимальным - от 1:1 до 2:1. При таком соотношении компонентов обеспечивается не только гидролитическая стабильность конъюгата, но и эффективное прохождение всех этапов процесса его лиофилизации. Образующие в результате лиофилизаты сохраняют стабильность на протяжении длительного времени (до нескольких лет) и обладают оптимальной растворимостью, а получаемые из них растворы физически и гидролитически стабильны на протяжении нескольких часов, что обеспечивает возможность их применения для парентерального введения в клинической практике.

Исследование влияния двухвалентных катионов магния и кальция на гидролитическую стабильность конъюгата этидроната с цитарабином

Исследовалась способность солей двухвалентных металлов ($MgCl_2$ и $CaCl_2$) замедлять гидролиз конъюгата этидроната с цитарабином.

В настоящем изобретении представлены специфические концентрации конъюгата и соотношения солей двухвалентных металлов и конъюгата, позволившие одновременно стабилизировать лекарственное средство в водном растворе и добиться оптимальных условий лиофилизации.

Были проведены исследования, в которых в качестве стабилизатора против гидролитического разложения был исследован хлорид магния. $MgCl_2$ был добавлен к растворам конъюгата МВС-11 в воде, тартратном буфере (50 ммоль/л, pH 5) и сукцинатном буфере (50 ммоль/л, pH 5). Были использованы следующие молярные соотношения $MgCl_2$ к субстанции МВС-11: (1:2), (1:1), (2:1) и выше (~12:1). Для оценки степени гидролиза регистрировали образование арабинозилцитозин монофосфата (Ara-CMP)(в

%) через 24 ч при 25°C.

Добавление $MgCl_2$ к растворам конъюгата привело к заметному улучшению стабильности последнего. Через 8 ч при 25°C несколько образцов, преимущественно в воде, показали увеличение содержания Ага-СМР всего лишь на 0,2% по сравнению с предыдущими наблюдениями в ~2% (табл. 1). В целом образцы, приготовленные в воде, были более стабильными по сравнению с образцами, приготовленными с использованием буферных растворов. Исключение составляли образцы с большим избытком $MgCl_2$, для которых стабильность конъюгата в буферных растворах и воде была относительно сопоставима.

Таблица 1
Влияние $MgCl_2$ на образование Ага-СМР при 25°C

Буферный раствор	Концентрация $MgCl_2$ (ммоль/л)	Молярное соотношение $MgCl_2$: МВС-11	Содержание Ага-СМР (%)			
			t=0	t=4	t=8	t=24
Тартрат	-	-	3,8	5,3	6,6	11,7
	0,87	1:2	2,5	3,5	4,5	8,4
	1,73	1:1	2,6	3,3	4,1	7,3
	3,5	2:1	2,5	3,0	3,5	5,5
	20	~12:1	2,6	2,7	3,0	3,8
Сукцинат	-	-	3,5	5,0	6,4	11,5
	0,87	1:2	2,6	3,5	4,4	7,9
	1,73	1:1	2,5	3,1	3,7	5,6
	3,5	2:1	2,6	3,1	3,7	5,8
	20	~12:1	2,5	2,7	2,9	3,6
Вода	0,87	1:2	2,6	3,3	4,0	6,8
	1,73	1:1	2,5	2,8	3,2	4,6
	3,5	2:1	2,7	2,7	2,9	3,7
	20	~12:1	2,6	2,7	2,9	3,5

* t - время (ч).

Согласно данным результатов эксперимента, при молярном соотношении $MgCl_2$ и конъюгата от 1:1 обеспечивается высокая гидролитическая стабильность конъюгата. Как следует из таблицы, использование воды в качестве растворителя и молярное соотношение $MgCl_2$ к МВС-11 2:1 обеспечивает наиболее высокую стабильность конъюгата в водных растворах. При более высоких концентрациях $MgCl_2$ отмечалось некоторое снижение эффекта, однако стабильность оставалась на высоком уровне (фиг. 1).

Также было исследовано использование хлорида кальция в качестве стабилизатора от гидролитического разложения в обоих буферных растворах и воде, константа скорости гидролиза сравнивалась с константой для $MgCl_2$. В воде при молярном соотношении $MgCl_2$ или $CaCl_2$ к МВС-11 2:1 константы скорости гидролиза оказались сходными ($K=0,0005$) и значительно превышали значения для водного раствора тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином, не содержащим вышеуказанных солей ($K=0,0044$). При молярных соотношениях менее 2:1 скорость гидролиза была ниже для растворов, содержащих $MgCl_2$.

Добавление солей двухвалентных металлов к водному раствору МВС-11 в молярном соотношении 2:1 приводит к замедлению реакции гидролиза на 90%. Таким образом, предпочтительным соотношением соли двухвалентного металла и конъюгата этидроната и цитарабина является соотношение 2:1, однако положительный эффект влияния солей на гидролитическую стабильность проявляется уже при соотношении 1:1 и сохраняется при соотношении более 2:1 (при соотношении 12:1 и выше).

Термическая характеристика растворов для лиофилизации

Были исследованы термические свойства растворов, предлагаемых для лиофилизации.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) использовалась для идентификации наиболее низкой возможной переходной температуры внутри раствора на протяжении всего процесса лиофилизации, включая замораживание и обезвоживание. Для растворов большинства фармацевтических продуктов этим параметром является температура стеклования или " $T_{ст}$ ". Все компоненты и их количества в растворе вносят вклад в итоговое значение $T_{ст}$. Эта температура обычно на несколько градусов ниже температуры, при которой спекшийся материал может разрушиться в процессе лиофилизации (температура коллапса, T_k). Без определения температуры коллапса при помощи таких методов, как криомикроскопия, температура стеклования может использоваться для выбора первичной температуры для сушки. До того момента, как первичная сушка завершится, исходная температура сушки должна быть установлена таким образом, чтобы не было флаконов, для которых была бы превышена температура стеклования (либо T_k , если она известна). В противном случае структура спекшегося материала может нарушиться. С одной стороны, температура лиофилизации должна быть близкой к $T_{ст}$, чтобы процесс протекал эффективно, а с другой - она не может превышать $T_{ст}$ из-за требований к процессу и качественным параметрам продукта. Таким образом, показатели температуры коллапса и стеклования являются важными параметрами расчета безопасных верхних температурных пределов, которые могут быть использованы для лио-

филизации.

На основании предлагаемого наполнения флаконов лекарственным средством (100 мг действующего вещества на флакон) были приготовлены потенциальные растворы для наполнения. Вспомогательные вещества включали стерильную воду для инъекций (СВДИ), 50 мМ сукцинатный и тартратный буферы при pH 5, MgCl₂, сульфобутиловый эфир β-циклодекстрина (SBEβCD), маннитол и декстран 40. Кроме того, для растворов, содержащих маннитол, было проведено исследование влияния этапа отжиг (стадия процесса лиофилизации, при которой образцы выдерживаются при определенной температуре ниже точки заморзания в течение определенного промежутка времени) на улучшение кристалличности готового продукта. Результаты ДСК представлены в табл. 2.

Таблица 2

Термические характеристики растворов для лиофилизации

Растворитель	МВС-11 (мг/мл)	Вспомогательное вещество	pH	Термический эффект (событие)
СВДИ	50	-	5,2	-21°C (T _{ст})
	100	-	5,4	-21°C (T _{ст})
	100	MgCl ₂ , 173 ммоль/л	--	-22°C (эндотермичность)
	100	MgCl ₂ , 350 ммоль/л	--	-26°C (эндотермичность)
	50	20% SBEβCD	--	-26°C (T _{ст})
	50	MgCl ₂ , 173 ммоль/л	4,23	-26°C (эндотермичность)
	50	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л	4,52	-34°C (T _{ст}) -21°C (эндотермичность)
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л	4,35	-26°C (эндотермичность)
	25	MgCl ₂ , 43,25 ммоль/л	4,59	-22°C (T _{ст}) -21°C (эндотерм)
	50	MgCl ₂ , 173 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	-	T _{ст} / эндотермичность перед расширением сплава
	50	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	-	T _{ст} / эндотермичность перед расширением сплава
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	--	T _{ст} / эндотермичность перед расширением сплава
	25	MgCl ₂ , 43,25 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	--	Возможная кристаллизация при -27°C
	25	MgCl ₂ , 43,25 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл Отжиг при -20°C	--	Кристаллизации после температурной обработки нет, характерная эндотермичность при -22°C
	25	MgCl ₂ , 43,25 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл Отжиг при -24°C	--	Кристаллизации после отжига не наблюдалось, слабая эндотермичность при -22°C
	100	MgCl ₂ , 173 ммоль/л 5% декстран-40	--	-29°C (T _{ст})
	50	MgCl ₂ , 173 ммоль/л 5% декстран-40	--	-36°C (T _{ст})
	50	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л 5% декстран-40	--	-24°C (T _{ст})
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л 5% декстран-40	--	-27°C (T _{ст})
	25	MgCl ₂ , 43,25 ммоль/л 5% декстран-40	--	-21°C (T _{ст})
Тартратный буфер	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л	4,48	-40°C (T _{ст}) -30°C (кристаллизация) -22°C (эндотермичность)
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	--	-40°C (T _{ст})
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л 5% декстран-40	--	-26°C (T _{ст})
Сукцинатный буфер	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л	4,52	-34°C (кристаллизация) -26°C (эндотермичность)
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л Маннитол, 25 мг/мл	--	T _{ст} / эндотермичность перед расширением сплава
	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л 5% декстран-40	--	-30°C (T _{ст})

Появление эндотермичности, позднее определенной как релаксация энтальпии, было характерно для большинства образцов, содержащих MgCl₂.

Исследование химической стабильности растворов для лиофилизации

Несколько вариантов растворов для лиофилизации были изучены в краткосрочном исследовании химической стабильности при 25°C, при этом буферные растворы не использовались. Результаты исследований представлены в табл. 3.

Таблица 3

Химическая стабильность растворов для лиофилизации

N п/п	МВС-11 (мг/мл)	Вспомогательное вещество	Чистота основного пика по данным ВЭЖХ в %				Константа гидролиза (К)
			*t=0	t=3	t=6	t=24	
1	100	-	91,30	90,79	89,70	84,62	0,0032
2	100	MgCl ₂ , 173 ммоль/л (1×соль)	91,33	91,16	90,76	86,87	0,0022
3	100	MgCl ₂ , 173 ммоль/л + 5% декстран	91,37	91,27	90,73	87,84	0,0017
4	50	-	91,38	90,38	89,53	84,11	0,0034
5	50	MgCl ₂ , 173 ммоль/л (2× соль)	91,42	X	90,97	90,24	0,0005
6	50	MgCl ₂ , 173 ммоль/л (2×соль) + маннитол 25 мг/мл	91,39	91,23	91,09	90,46	0,0004
7	50	20% SBEβCD	91,27	90,65	89,75	85,40	0,0028
8	50	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л (1×соль) + 5% декстран	91,16	90,86	90,81	89,67	0,0007
9	25	MgCl ₂ , 86,5 ммоль/л (2×соль) + 5% декстран	91,11	90,93	90,87	90,16	0,0004
10	25	MgCl ₂ , 43,3 ммоль/л (1×соль) + 5% декстран	91,28	90,94	90,67	89,80	0,0006
11	25	Маннитол, 25 мг/мл	91,24	90,16	89,35	83,71	0,0036

* t - время (ч).

Как отмечалось ранее, наиболее стабильные растворы содержат MgCl₂ в молярном соотношении к лекарственному веществу 2:1. Образцы с соотношением 1:1 несколько менее стабильны, но всё же демонстрируют низкие значения константы гидролиза. Выявлено, что присутствие маннитола или декстрана, вопреки ожиданиям, не приводит к улучшению химической стабильности. В растворах с концентрацией 100 мг/мл на следующий день были обнаружены признаки образования осадка, что могло отразиться на приведенных в таблице значениях чистоты. Образцы, выделенные жирным шрифтом, показали достаточную стабильность для того, чтобы быть перспективными растворами для наполнения флаконов для проведения лиофилизации. За сутки при 25°C содержание конъюгата этидроната с цитарабином в этих образцах снизилось всего на 1-1,5%.

Варианты лиофилизированной лекарственной формы

Несколько растворов для заполнения флаконов были выбраны в качестве вариантов для приготовления лиофилизированной лекарственной формы. Выбранные лекарственные формы представлены ниже (табл. 4).

Таблица 4

Выбранные лекарственные формы

	МВС-11 (мг/мл)	Вспомогательное вещество, (в СВДИ, pH 5)	Константа скорости гидролиза (К)	Термическая характеристика (°C)	
A	50	MgCl ₂ (2×соль) 173 ммоль/л	0,0005	-26	Эндотерм
B	50	MgCl ₂ (2×соль) 173 ммоль/л + маннитол 25 мг/мл	0,0004	-	-
C	50	20% SBEβCD	0,0028	-26	T _{ст}
D	50	MgCl ₂ (1×соль) 86,5 ммоль/л + 5% декстран	0,0007	-24	T _{ст}
E	25	MgCl ₂ (2×соль) 86,5 ммоль/л + 5% декстран	0,0004	-27	T _{ст}
F	25	MgCl ₂ (1×соль) 43,3 ммоль/л + 5% декстран	0,0006	-21	T _{ст}

Данные растворы были лиофилизированы с использованием обычного цикла с установленной первичной температурой сушильного стеллажа -26°C и температурой вторичного высушивания 32°C. Этап отжига не применялся (табл. 5).

Таблица 5

Характеристика спекшегося материала

Форма	МВС-11 (мг/мл)	Вспомогательное вещество, в СВДИ с рН 5	Внешний вид*	Растворение	Чистота перед лиофилизацией (%)	Чистота после лиофилизации (%)
A	50	MgCl ₂ (2×соль) 173 ммоль/л	4	10 сек.	95,8	95,5
B	50	MgCl ₂ (2×соль) 173 ммоль/л + маннитол 25 мг/мл	5	10 сек.	95,9	95,7
C	50	20% SVEβCD	2	10 сек.	95,5	95,5
D	50	MgCl ₂ (1×соль) 86,5 ммоль/л + 5% декстран	3	1 мин.	95,7	95,7
E	25	MgCl ₂ (2×соль) 86,5 ммоль/л + 5% декстран	4	1 мин.	95,8	95,8
F	25	MgCl ₂ (1×соль) 43,3 ммоль/л + 5% декстран	4	1 мин.	95,9	95,5

* Расшифровка характеристики внешнего вида:

- 1 - отличный;
- 2 - растрескавшийся;
- 3 - слегка уменьшенный в объеме;
- 4 - уменьшение в объеме/сплавление;
- 5 - полный коллапс/деформация.

Лекарственные формы А, С, D и Е были выбраны для краткосрочного ускоренного исследования стабильности при 40 и 60°C. Для оценки степени гидролиза оценивалось образование Ага-СМР (в %). Через 21 день при 40°C все лекарственные формы, содержащие MgCl₂, показали сходные увеличения содержания Ага-СМР приблизительно на 0,4-0,5%. Для образцов с молярным соотношением 2:1 образование Ага-СМР происходило в несколько меньшей степени по сравнению с образцами с молярным соотношением 1:1. Через 8 дней при 60°C было показано увеличение содержания Ага-СМР приблизительно на 0,8%. Образец SVEβCD через 8 дней показал большее увеличение Ага-СМР (0,6% при 40°C и 1,6% при 60°C). Приблизительные оценки срока годности с использованием уравнения Аррениуса показывают, что длительное хранение при температуре 2-8°C должно обеспечить срок годности не менее двух лет, принимая во внимание тот факт, что уровень Ага-СМР, указанный в спецификации, должен быть менее 5,0%.

Исследование влияния использования этапа отжига

Для оценки использования этапа отжига в качестве части цикла была выбрана лекарственная форма с молярным соотношением MgCl₂ к МВС-11 (2:1). Отжиг является этапом процесса, во время которого образцы выдерживаются при специфической температуре ниже точки замерзания в течение определенного периода времени. Он используется, чтобы способствовать кристаллизации активных ингредиентов и наполнителей, а также для изменения формы и размера кристаллов льда при помощи Освальдовского созревания. Отжиг может влиять как на длительность цикла, так и на стабильность готового продукта.

Использование модулированной ДСК для характеристики лекарственной формы с действующим веществом в концентрации 50 мг/мл показало явную кристаллизацию при -37°C, которая не была ранее выделена из энтальпической составляющей (-27°C) во время быстрого вывода на заданный температурный режим. Наблюдение также подтвердило, почему в спекшемся материале в течение первого цикла лиофилизации при основной температуре сушки в -26°C имело место расплавление. Этап отжига при -35°C, что на два градуса выше температуры стеклования, был включен в лиофилизационный цикл. Для лиофилизации использовали флаконы объемом 5 мл, которые заполняли раствором по 2 мл в каждый. В результате цикла лиофилизации образовывался спекшийся материал без трещин.

Лиофилизированный материал выдерживался при 40°C для определения стабильности. Гидролиз оценивали по образованию Ага-СМР. Через 21 день (3 недели) содержание Ага-СМР повысилось на 0,4%, что было сходно с образцом, полученным с использованием лиофилизационного цикла без этапа отжига.

Несмотря на то что с точки зрения химической стабильности этап отжига не имеет четких преимуществ или недостатков, рекомендуется использовать его для получения более крупных и однородных кристаллов, повышая, таким образом, эффективность цикла.

Стабильность предлагаемых растворов для наполнения флаконов для лиофилизации

Было проведено несколько исследований стабильности растворов, предлагаемых для наполнения флаконов для лиофилизации. Во время первого исследования оценивались следующие растворы при 2-8°C, 25°C и температуре окружающей среды в течение 30 ч (табл. 6). Количество субстанции МВС-11 составляло 100 мг на флакон.

Предлагаемые растворы для наполнения

Состав лекарственной формы	МВС-11 (мг/мл)	Объем раствора для наполнения (мл)
MgCl ₂ :МВС-11 (2:1)	50	2
MgCl ₂ :МВС-11 (1:1) и 5% декстран-40	50	2
MgCl ₂ :МВС-11 (2:1) и 5% декстран-40	25	4
MgCl ₂ :МВС-11 (2:1) и 10% декстран 40	25	4

В целом все растворы с молярным соотношением MgCl₂: МВС-11 2:1 показали одинаковые уровни деградации МВС-11 (увеличение содержания Ага-СМР на 0,75% в течение 30 ч при температуре окружающей среды). За это же время содержание Ага-СМР в растворе с соотношением 1:1 в большинстве случаев было приблизительно на 0,1-0,3% выше. Этот результат находится в соответствии с другими наблюдениями, свидетельствующими в пользу того, что при увеличении соотношения стабилизатора и конъюгата от 1:1 и более, гидролитическая стабильность растворов увеличивается. Количество МВС-11 или количество присутствующего декстрана не оказывало существенного влияния на химическую стабильность.

Исследование физической стабильности растворов для наполнения

Как отмечалось ранее, использование двухвалентных катионов приводит к физической нестабильности, а именно, в результате применения двухвалентных катионов может образовываться нерастворимый осадок. Поэтому были проведены исследования с целью оценки физической стабильности растворов, содержащих различные концентрации конъюгата этидроната с цитарабином (от 10 мг/мл до 50 мг/мл) с соотношениями MgCl₂ к лекарственному веществу от 1:1 до 10:1. Приготовленные растворы хранили в стеклянных флаконах, часть из них профильтровали через 0,2 мкм поливинилиденфторидный (PVDF) фильтр. Исследование проводили при 2-8°C и комнатной температуре.

В целом снижение общей концентрации МВС-11 в растворе для наполнения флаконов для лиофилизации улучшило физическую стабильность растворов, полученных растворением лиофилизата. Все растворы с концентрацией 10 мг/мл при обоих вариантах условий (т.е. при 2-8°C и при комнатной температуре) были физически стабильны на протяжении 27 ч. Через 27 ч стал появляться некоторый осадок в одном из образцов, хранившихся при 2-8°C. Растворы с концентрацией 25 мг/мл были стабильны в течение 24 ч. После 24 ч несколько лекарственных форм показали признаки появления осадка. В растворах с концентрацией 25 мг/мл через 8 ч при 2-8°C наблюдали появление осадка. Также в процессе исследования отслеживалась химическая стабильность, и полученные данные соответствовали результатам предыдущих исследований. Сводные таблицы физических наблюдений представлены ниже. Код результатов визуальных наблюдений:

* - прозрачный раствор (твердые частицы отсутствуют),

** - небольшие хлопьевидные частицы,

*** - большие белые хлопьевидные частицы

Результаты визуальных наблюдений за растворами для наполнения при температуре 2-8°C

Код лекарственной формы	Состав лекарственной формы	Время (часы)							
		t=0	t=2	t=4	t=8	t=24	t=27	t=30	t=48
F1a-NF	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	**	***	***	***	***
F1a-F	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***
F2a-NF	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***
F2a-F	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	***	***	***
F1b-NF	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	**
F1b-F	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	**
F2b-NF	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	**	**	**
F2b-F	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	**
F1c-NF	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*
F1c-F	10 мг/мл тринатриевой соли	*	*	*	*	*	*	*	*

	МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)								
F2c-NF	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	**
F2c-F	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*

Таблица 8

Результаты визуальных наблюдений за растворами для наполнения при комнатной температуре

Код лекарст- венной формы	Состав лекарственной формы	Время (часы)							
		t=0	t=2	t=4	t=8	t=24	t=27	t=30	T=48
F1a-NF	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***
F1a-F	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***
F2a-NF	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***

F2a-F	50 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	***	***	***	***
F1b-NF	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	**	**	**
F1b-F	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	**	**	**
F2b-NF	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	**	**	**
F2b-F	25 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	**
F1c-NF	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*
F1c-F	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 173 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*
F2c-NF	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор не фильтровали после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*
F2c-F	10 мг/мл тринатриевой соли МВС-11 и 86,5 ммоль/л MgCl ₂ (раствор отфильтрован после приготовления)	*	*	*	*	*	*	*	*

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что при увеличении соотношения стабилизатора к конъюгату от 1:1 физическая стабильность растворов увеличивается. Кроме того, установлено, что увеличение концентрации конъюгата этидроната с цитарабином в растворе более 25 мг/мл отрицательно влияет на его физическую стабильность.

Исследование совместимости со средой для внутривенного введения

Был приготовлен раствор с концентрацией МВС-11 25 мг/мл и молярным соотношением MgCl₂ к МВС-11 2:1 с 5% декстраном, который затем разводили до концентрации 1 мг/мл в различных средах для внутривенного введения: фосфатно-солевой буфер, физиологический раствор, фосфатно-солевой буфер Дульбекко, изотонический раствор хлорида натрия, раствор Рингера с лактатом и 5% раствор декстрозы

в воде (D5W). Раствор декстрозы D5W показал наименьшую деградацию МВС-11, содержание Ага-СМР в течение одного дня увеличилось на 1%. Данное увеличение было сходно с водным контрольным образцом, что указывает на то, что декстроза не оказывает отрицательного влияния на активный фармацевтический ингредиент МВС-11.

Исследование физической и гидролитической стабильности восстановленных лиофилизатов

В следующем исследовании использовался восстановленный лиофилизат следующего состава, из расчета на один флакон:

Объем наполнения	Количество МВС-11 (мг)	Количество МВС-11 (мкмоль)	Количество MgCl ₂ (мг)	Количество MgCl ₂ (мкмоль)
5 мл	100	173	32,9	346

Ллиофилизированную лекарственную форму оценивали на совместимость с тремя различными средами для внутривенного введения в течение 24 ч - стерильную воду для инъекций (СВДИ), D5W и 0,9% раствор хлорида натрия. Исследовали низкие и высокие инфузионные дозы для клинического использования, которые составили 0,25 мг/мл и 10 мг/мл МВС-11 в растворе соответственно. Ллиофилизированную лекарственную форму сначала растворили в 5 мл СВДИ до получения концентрации 20 мг/мл МВС-11, а затем помещали в стеклянные флаконы и разбавляли каждой средой для внутривенного введения до получения исследуемых инфузионных доз. Полученные таким образом растворы выдерживали при температурах 2-8°C и 25°C в течение 24 ч, оценивая образцы по внешнему виду, содержанию и чистоте в точках t = 0, 2, 4, 6 и 24 ч.

В каждой контрольной точке растворы для внутривенного введения с высокой дозировкой оценивали по внешнему виду, после чего их разбавляли до номинальной аналитической концентрации 1 мг/мл растворителем, используемым в аналитическом методе оценки чистоты субстанции. Полученные таким образом образцы использовали для определения чистоты и содержания активной фармацевтической субстанции.

Результаты показали, что образцы с низкой концентрацией физически стабильны в течение 24 ч. Образцы, содержащие высокую дозу, физически стабильны до 6 ч. На основании данных, полученных через 6 ч, наилучшая химическая стабильность была достигнута при использовании D5W или воды. Для всех приготовленных растворов лекарственной формы максимальное увеличение содержания Ага-СМР составляло 1,4% в образцах с внутривенной средой на основе хлорида натрия с низкой дозой, хранившихся при 25°C в течение 6 ч. Для сравнения, образец с низкой дозой МВС-11 в среде D5W показал только 0,5% повышение содержания Ага-СМР при тех же условиях.

Пример приготовления лекарственного препарата по изобретению

Взвешивают 14,1±0,1 г хлорида магния гексагидрата в чистом сосуде емкостью 1л. В эту же емкость добавляют 985,9±1,0 г стерильной воды для инъекций. Полученную смесь перемешивают на магнитной мешалке до полного растворения при комнатной температуре.

Взвешивают 15,69±0,05 г МВС-11 (поправка только на содержание воды) в сосуде емкостью 1л. Далее в эту же емкость добавляют 744,1±3,0 г раствора хлорида магния, приготовленного выше. Полученную смесь перемешивают до полного растворения при комнатной температуре. Отбирают 3 мл аликвоту для контроля pH. Полученный раствор подвергают стерильному фильтрованию через 0,2 мкм поливинилиденфторидный (PVDF) фильтр в стерильную емкость, используя фильтрационный прибор Millirogе SCGVU11RE. Полученный фильтрат разливают в стеклянные флаконы емкостью 20 мл по 5,4 мл в каждый и лиофилизируют.

Частично укупоренные резиновой пробкой флаконы с готовым продуктом полностью укупоривают с помощью прижимных плит лиофильной камеры и обжимают алюмо-пластовыми колпачками и затем помещают в холодную камеру для хранения при температуре 2-8°C.

Для внутривенного введения готовят восстановленный раствор лиофилизата путём растворения содержимого флакона предпочтительно в воде или D5W таким образом, чтобы концентрация препарата составляла не более 10 мг/мл. Как было установлено, при больших концентрациях восстановленный раствор препарата не обладает физической стабильностью. Полученный таким образом восстановленный раствор переносится в инфузионный пакет стандартного объёма, содержащий физиологический раствор или D5W. Количество флаконов с восстановленным раствором лиофилизата на один инфузионный пакет определяется дозировкой по предписанию врача.

Пример приготовления растворов для инфузионного введения

Для приготовления растворов для внутривенного инфузионного (капельного) введения используют лекарственный препарат в форме лиофилизата (фармацевтическую композицию) следующего состава (на 1 флакон объемом 20 мл):

Название вещества	Количество, мг
Действующее вещество (активный компонент):	
1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил-1-гидроксиэтилфосфониевой кислоты тринатриевая соль	110,5 мг
(в пересчете на сухое безводное вещество, свободная кислота)	(100,00 мг)
Вспомогательное вещество:	
Магния хлорид	33,00 мг

Для получения восстановленного раствора во флакон, содержащий лекарственный препарат, добавляют воду для инъекций в объеме 10 мл (для получения раствора концентрацией 10 мг/мл в пересчете на свободную кислоту), содержимое флакона перемешивают легкими покачивающими движениями, не допуская вспенивания. Время растворения лиофилизата составляет не более 5 мин. Восстановленный раствор хранят во флаконе не более 1 ч при температуре 2-8°C. Перед введением пациенту приготовленный восстановленный раствор препарата разводят в 5% растворе декстрозы (глюкозы) для инъекций (D5W) до суммарного объема 500 мл путем стерильного переноса восстановленного раствора препарата в инфузионный пакет, содержащий рассчитанное количество D5W.

Количество флаконов с восстановленным раствором лиофилизата на один инфузионный пакет определяется так, чтобы обеспечить требуемую суточную дозу активного компонента (тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту) для введения пациенту. Для обеспечения терапевтического эффекта концентрация конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту в растворе должна составлять от 0,01 до 5 мг/мл. В более предпочтительных вариантах концентрация конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту в растворе составляет от 0,04 до 2 мг/мл.

Количество лиофилизата (т.е. лекарственного препарата, представляющего собой лиофилизат для приготовления раствора для парентерального введения, содержащий компоненты: фармацевтически приемлемую соль двухвалентного металла и 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту или его ее фармацевтически приемлемую соль, в молярном соотношении компонентов от 1:1 до 20:1), которое необходимо взять для получения раствора необходимой концентрации, может быть рассчитано на основании известных расчетов и исходя из приведенных в материалах заявки данных о терапевтически эффективном количестве лекарственного препарата по изобретению.

Как уже указывалось выше, суточная доза для каждого пациента рассчитывается индивидуально, исходя из терапевтически эффективного количества, зависящего от общего состояния пациента, тяжести заболевания, методики, режима введения препарата, комбинированного лечения с другими препаратами и другой противоопухолевой терапией и т.п., и может составлять от 0,001 до 50 мг/кг, более предпочтительно, от 0,001 до 25 мг/кг, еще более предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг, от 0,1 до 6 мг/кг, наиболее предпочтительно от 0,5 до 5 мг/кг (из расчета количества активного компонента, т.е. свободной кислоты конъюгата этидроната с цитарабином, на массу пациента).

Продолжительность внутривенной инфузии составляет около 2 ч, более предпочтительно не более 2 ч.

Приведенная методика приготовления раствора может быть модифицирована в соответствии с принятыми методами приготовления растворов для внутривенной капельной инфузии. Так, например, объем вводимого раствора может варьировать от 100 до 1000 мл, при этом суточная доза может вводиться в один или несколько приемов, в зависимости от индивидуальных особенностей пациента. Разведение лиофилизата в два этапа, как это указано выше в приведенном примере, также не является обязательным и единственным способом получения раствора необходимой концентрации.

Исследование эффективности и безопасности лекарственного препарата по изобретению при лечении костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями.

С целью оценки эффективности и безопасности нового лекарственного препарата были проведены клинические исследования I фазы по протоколу "Открытое нерандомизированное многоцентровое клиническое исследование". В рамках протокола исследовались дозы лекарственного препарата из расчета 0,5, 1,0, 2,5, 5, 10 мг/кг активного компонента (конъюгата этидроната с цитарабином в пересчете на свободную кислоту).

Пациентам вводили раствор для парентерального введения, полученный растворением фармацевтической композиции по изобретению, представляющей собой лиофилизат для приготовления раствора для парентерального введения, включающий магния хлорид и тринатриевую соль конъюгата этидроната с цитарабином, в молярном соотношении компонентов 2:1, в фармацевтически приемлемом растворителе, приготовленный вышеуказанным способом.

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что максимальной переносимой суточной дозой активного вещества является доза 5 мг/кг. Дозы, превышающие 5 мг/кг, также являются эффективными, но менее рекомендуемыми из-за худшей переносимости. Для доз 0,5, 1,0, 2,5, 5 мг/кг выявлен хороший профиль безопасности и эффективности.

Всего в исследовании приняли участие 16 пациентов с костными поражениями, вызванными злокачественными новообразованиями, из них 15 получили однократное и многократное дозирование исследуемым препаратом, 1 пациент выбыл после однократного дозирования в связи с нежелательным явлением, не связанным с исследуемым препаратом. Всего проведено исследование 5-ти когорт пациентов (по 3 человека в каждой), с дозовыми уровнями 0,5, 1,0, 2,5, 5, 10 мг/кг. Все пациенты получили однократное дозирование исследуемым препаратом в дозе, соответствующей дозовому уровню когорты с последующим недельным периодом наблюдения и по меньшей мере 2-х циклов многократного дозирования. Цикл состоял из ежедневного введения (один раз в сутки) лекарственного препарата в течение 5 дней с последующим перерывом 23 дня. В когорте 5 с дозовым уровнем 10 мг/кг зарегистрирована дозопредельная токсичность (ДЛТ) у двух пациентов из 3-х (тромбоцитопения 4 степени и нейтропения 4 степени). Согласно критериям протокола, максимально переносимой дозой считается доза на 1 уровень ниже, чем ДЛТ (5 мг/кг). Из 206 зарегистрированных очагов с костными поражениями, вызванными злокачественными новообразованиями, в 53,8% случаев отмечено уменьшение уровня стандартизованного накопления радиофармпрепарата (2-фтор-2-дезоксид-глюкозы (ФДГ), определяемой по стандартной процедуре ПЭТ-КТ) в метастатических костных очагах на 25% и более.

В результате проведенных исследований было установлено, что наиболее оптимальным является введение раствора лекарственного препарата в объеме 500 мл на протяжении 2 ч, хотя могут быть эффективны и другие режимы введения.

Для достижения терапевтического эффекта могут быть использованы следующие режимы лечения, но не ограничиваясь ими:

ежедневное проведение инфузий раствора лекарственного препарата в течение 5 дней с последующим перерывом не менее 23 дней;

ежедневное проведение инфузий раствора лекарственного препарата в течение 5 дней с последующим перерывом в течение 23-40 дней;

проведение инфузий раствора лекарственного препарата в режиме 3 введения через день с последующим перерывом не менее 23 дней;

проведение инфузий раствора лекарственного препарата в режиме не менее одного введения в неделю на протяжении 12 месяцев;

проведение инфузий раствора лекарственного препарата в режиме не менее одного введения в месяц на протяжении 12 месяцев.

Количество вышеуказанных циклов обычно составляет от 1 до 12 на курс лечения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения количество циклов составляет от 1 до 6 на курс лечения.

Схема лечения, а также длительность лечения также могут варьировать от пациента к пациенту и составлять от минимального курса лечения до проведения лечения курсами на протяжении всей жизни пациента. Кроме того, возможна также комбинация различных схем лечения у одного пациента на протяжении курса его лечения.

Ниже приведены клинические примеры лечения пациентов препаратом по изобретению.

Пример 1.

Пациент Е. (пол - жен.), диагноз - распространенный рак молочной железы. Множественные метастазы в костях свода черепа, шейных, грудных и поясничных отделах позвоночника, ключицы, грудины, плечевых костях, подвздошных костях.

Получала лечение препаратом по изобретению (раствор лиофилизата магния хлорида и тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином в молярном соотношении компонентов 2:1, в фармацевтически приемлемом растворителе) в дозе 0,5 мг/кг. После 2-х циклов применения препарата по результатам ПЭТ-КТ (позитронно-эмиссионная и компьютерная томография) зарегистрирована частичная метаболическая реакция костных очагов метастазирования. Всего получила 4 цикла терапии исследуемым препаратом: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом 23 дня.

В результате проведенного лечения метаболическая активность костных очагов в груди, левой ключице и правой плечевой кости не отмечается (снижение активности на 100%). Также отмечено снижение уровня метаболической активности в подвздошной кости (на 55%), в поясничных позвонках (на 57%), в шейных позвонках (на 72%), в грудных позвонках.

Пример 2.

Пациент К. (пол - жен.), диагноз - распространенный рак молочной железы. Множественные очаги деструкции и склероза в костях свода черепа, нижней челюсти, шейных, грудных, поясничных позвонках, крестце, лонных и подвздошных костях, ребрах, ключицах, лопатках, костях таза, бедренных, плечевых костях, с патологическими переломами ребер, тел всех грудных и поясничных позвонков.

Получала лечение препаратом по изобретению (раствор лиофилизата магния хлорида и тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином в молярном соотношении компонентов 2:1, в фармацевтически приемлемом растворителе) в дозе 2,5 мг/кг. Всего получила 4 цикла терапии исследуемым препаратом: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом 23 дня.

В результате проведенного лечения отмечался регресс метаболической активности в различных костных метастатических очагах, зарегистрировано стабильное нарушение метаболизма костных очагов метастазирования. В том числе, в крестце наблюдалось снижение стандартизированного уровня накопления радиофармпрепарата на 20%, в правом 7-ом ребре - на 25%, в левой лонной кости - на 30%, в правой подвздошной кости - на 20%.

Пример 3.

Пациент С. (пол - муж.), диагноз - распространенный рак предстательной железы. Множественные метастазы в костях (грудные и поясничные позвонки, подвздошные кости, ребра, лонные кости).

Получал лечение препаратом по изобретению (раствор лиофилизата магния хлорида и тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином в молярном соотношении компонентов 2:1, в фармацевтически приемлемом растворителе) в дозе 1,0 мг/кг. Всего получил 4 цикла терапии исследуемым препаратом: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом 23 дня.

В результате проведенного лечения зарегистрирован регресс метаболической активности во всех метастатических очагах. В костных очагах в грудных и поясничных позвонках (Th7, Th12, L1), правой подвздошной кости, 4, 5 и 6-ом ребрах, лонных костях гиперметаболизма более не отмечается (снижение на 100%). В левой подвздошной кости уровень накопления радиофармпрепарата снизился на 40%.

Пример 4

Пациент П. (пол - жен.), диагноз - распространенный рак молочной железы. Множественные метастазы в костях (крестец, подвздошные кости, грудина, вертлужная впадина).

Получала лечение препаратом по изобретению (раствор лиофилизата магния хлорида и тринатриевой соли конъюгата этидроната с цитарабином в молярном соотношении компонентов 2:1, в фармацевтически приемлемом растворителе) в дозе 5,0 мг/кг. Всего получила 2 цикла терапии исследуемым препаратом: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом 23 дня.

В результате проведенного лечения зарегистрировано стабильное нарушение метаболизма во всех метастатических очагах. Отмечается снижение уровня метаболизма в целевых очагах (крестец и подвздошная кость) на 10 и 50% соответственно, по нецелевым очагам отмечается снижение на 5-15%.

Несмотря на то что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые варианты воплощения, для специалистов в данной области должно быть очевидно, что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения. Должно быть понятно, что возможно осуществление различных модификаций без отступления от сути настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лекарственный препарат для лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, представляющий собой лиофилизат для приготовления раствора для парентерального введения, включающий компоненты:

фармацевтически приемлемая соль двухвалентного металла и
1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевая кислота или ее фармацевтически приемлемая соль,

в молярном соотношении компонентов от 1:1 до 20:1, причем соль двухвалентного металла представляет собой соль магния или кальция.

2. Лекарственный препарат по п.1, в котором соль двухвалентного металла представляет собой магния хлорид или кальция хлорид.

3. Лекарственный препарат по п.1, в котором фармацевтически приемлемая соль 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевой кислоты представляет собой тринатриевую соль.

4. Лекарственный препарат по п.1, в котором молярное соотношение компонентов составляет от 1:1 до 12:1.

5. Лекарственный препарат по п.1, в котором молярное соотношение компонентов составляет от 1:1 до 2:1.

6. Лекарственный препарат по п.1, в котором молярное соотношение компонентов составляет 2:1.

7. Лекарственный препарат по любому из пп.1-6, характеризующийся тем, что костное поражение, вызванное злокачественными новообразованиями, представляет собой первичный рак кости, множественную миелому, метастатические поражения костной ткани, вызванные раком молочной, предстательной или щитовидной железы, легких, почек, желудочно-кишечного тракта, яичников, меланомой, лимфомой или злокачественными новообразованиями других тканей и органов.

8. Способ лечения костных поражений, вызванных злокачественными новообразованиями, включающий парентеральное введение раствора в фармацевтически приемлемом растворителе лекарственного препарата, представляющего собой лиофилизат, включающий компоненты:

фармацевтически приемлемая соль двухвалентного металла и

1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевая кислота или ее фармацевтически приемлемая соль,

в молярном соотношении компонентов от 1:1 до 20:1, причем соль двухвалентного металла представляет собой соль магния или кальция.

9. Способ по п.8, в котором соль двухвалентного металла представляет собой магния хлорид или кальция хлорид.

10. Способ по п.8, в котором фармацевтически приемлемая соль 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевой кислоты представляет собой тринатриевую соль.

11. Способ по п.8, в котором молярное соотношение компонентов оставляет 2:1.

12. Способ по п.8, в котором фармацевтически приемлемый растворитель представляет собой 5%-ный водный раствор декстрозы и/или стерильную воду для инъекций.

13. Способ по п.8, в котором парентеральным введением является введение в виде внутривенной капельной инфузии.

14. Способ по п.13, в котором концентрация лекарственного препарата в пересчете на свободную 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту в растворе составляет от 0,01 до 5 мг/мл.

15. Способ по п.14, в котором концентрация лекарственного препарата в пересчете на свободную 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту в растворе составляет от 0,04 до 2 мг/мл.

16. Способ по п.8, в котором лекарственный препарат в пересчете на свободную 1-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорилокси)(гидрокси)фосфорил)-1-гидроксиэтилфосфониевую кислоту вводят в дозе от 0,5 до 5 мг/кг в виде внутривенной капельной инфузии.

17. Способ по любому из пп.14-16, в котором пациенту вводят раствор лекарственного препарата в объеме 500 мл.

18. Способ по п.17, в котором инфузии проводят циклами: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом не менее 23 дней.

19. Способ по п.18, в котором инфузии проводят циклами: ежедневное введение в течение 5 дней с последующим перерывом в течение 23-40 дней.

20. Способ по п.17, в котором инфузии проводят циклами: 3 введения через день с последующим перерывом не менее 23 дней.

21. Способ по п.17, в котором инфузии проводят циклами: не менее одного введения в неделю на протяжении 12 месяцев.

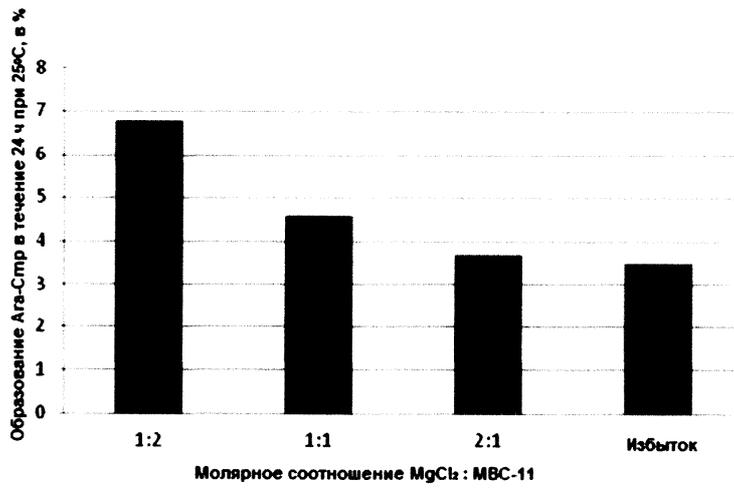
22. Способ по п.17, в котором инфузии проводят циклами: не менее одного введения в месяц на протяжении 12 месяцев.

23. Способ по любому из пп.18-22, в котором количество циклов составляет от 1 до 12 на курс лечения.

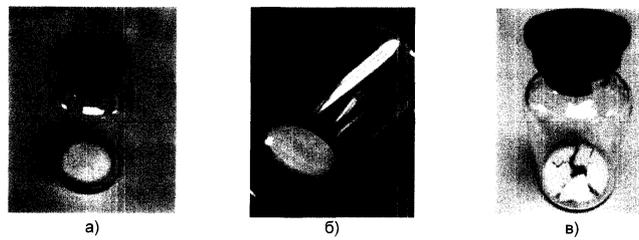
24. Способ по любому из пп.18-23, в котором количество циклов составляет от 1 до 6 на курс лечения.

25. Способ лечения по п.8, в котором костное поражение, вызванное злокачественными новообразованиями, представляет собой первичный рак кости, множественную миелому, метастатические поражения костной ткани, вызванные раком молочной, предстательной или щитовидной железы, легких, почек, желудочно-кишечного тракта, яичников, меланомой, лимфомой или злокачественными новообразованиями других тканей и органов.

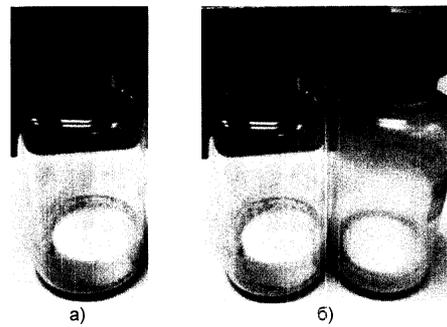
26. Способ лечения по п.25, в котором первичный рак кости представляет собой остеосаркому, саркому Юинга, хондросаркому, фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, гигантоклеточную опухоль кости или хордому.



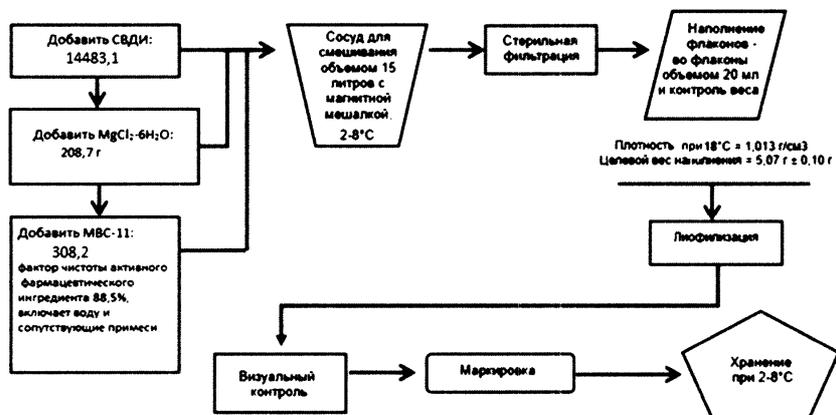
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

