

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 034320

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.01.28

(21) Номер заявки
201790055

(22) Дата подачи заявки
2011.08.23

(51) Int. Cl. A61K 31/575 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ ДЕЗОКСИХОЛАТА НАТРИЯ

(43) 2017.05.31

(62) 201490175; 2011.08.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КИТЕРА БИОФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ходж Роберт Эмил, Вебстер Джеффри
Дуглас, Мориарти Роберт М. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) ROTUNDA A.M. et al. Randomized double-blind clinical trial of subcutaneously injected deoxycholate versus a phosphatidylcholine-deoxycholate combination for the reduction of submental fat, Dermatol Surg, 2009; 35:792-803
US-B1-6417179
US-A1-20050261258

(57) Изобретение относится к устойчивой к осаждению водной композиции для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящей, по существу, из от приблизительно 0,5 до приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия и фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, при этом указанная композиция имеет pH от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. Также в изобретении предложены способ лизирования жировых клеток, включающий подкожное введение путем инъекции указанной композиции, а также применение указанной композиции для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции.

B1

034320

034320

B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к водным фармацевтическим составам, содержащим очень низкие концентрации соли дезоксихолевой кислоты ("ДХК"), при этом pH указанного состава сохраняется на уровне, при котором выпадение ДХК в осадок, по существу, подавляется. Согласно предпочтительному варианту реализации фармацевтическая композиция буферизована для сохранения физиологически приемлемых уровней pH, так что указанная композиция подходит для инъекций.

Уровень техники

В недавно опубликованных источниках сообщается, что водные растворы ДХК обладают жироразрушающими свойствами при инъектировании в жировые отложения *in vivo* (см. WO 2005/117900 и WO 2005/112942, US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468 и US2006/0154906). ДХК, инъектированная в жировую ткань, разрушает жировые клетки за счет цитолитического механизма с обеспечением желаемого эстетического эффекта.

Несмотря на преимущества водных составов ДХК, было обнаружено, что при низких концентрациях ДХК (т.е. менее чем или приблизительно 2% (мас./об.) в водных растворах, которые необязательно содержат бензиловый спирт, при хранении со временем образуется осадок. Неожиданно было обнаружено, что чем ниже концентрация ДХК, тем выше скорость образования осадка, независимо от сколь угодно существенных изменений pH указанного раствора. Указанное образование осадка при очень низких концентрациях представляет собой проблему для коммерциализации, так как наличие осадка противопоказано при подкожных инъекциях ДХК.

При каждой схеме лечения в текущих клинических испытаниях водных составов ДХК производится несколько инъекций небольших количеств указанного водного состава в различные участки, ограничивающие подлежащие воздействию жировые отложения.

Очевидно, что применение водных составов ДХК для такого воздействия сопряжено с проблемами, связанными с выпадением ДХК в осадок. Это означает, что в поначалу прозрачном водном растворе ДХК с коммерчески целесообразными концентрациями ДХК при хранении с течением времени образуется осадок, несмотря на тот факт, что значения pH указанных растворов составляют от приблизительно 7,50 до приблизительно 8,0, что существенно выше pKa дезоксихолевой кислоты.

Таким образом, существует потребность в стабилизации низкоконцентрированных водных растворов дезоксихолевой кислоты или ее соли для предотвращения образования осадка на протяжении срока хранения, составляющего по меньшей мере 2 месяца.

Краткое описание изобретения

Неожиданно было обнаружено, что водные растворы соли дезоксихолевой кислоты с концентрациями от приблизительно 0,4 до менее чем приблизительно 2% (мас./об.) могут быть стабилизированы путем доведения pH указанного раствора до значений, превышающих приблизительно 8, и предпочтительно начинающихся от физиологически приемлемого pH, составляющего от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. Значения pH предпочтительно сохраняются в указанном диапазоне за счет применения буферов.

Соответственно согласно одному из аспектов предложенных композиций настоящее изобретение относится к устойчивой к осаждению водной композиции для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящей, по существу, из от приблизительно 0,5 до приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия и фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, при этом указанная композиция имеет pH от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5.

Согласно другому варианту реализации настоящее изобретение относится к устойчивой к осаждению водной композиции для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящей, по существу, из стерильного водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 0,5% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензинового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия.

Также в настоящей заявке предложена устойчивая к осаждению водная композиция для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящая, по существу, из водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензинового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия.

Также в настоящей заявке предложен способ лизирования жировой клетки, включающий введение в указанную клетку композиции в соответствии с настоящим изобретением, а также применение указанной композиции для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 видно (67-кратное увеличение), что водная композиция из воды и 0,9% (мас./об.) бензинового спирта и без дезоксихолата натрия содержит только следовое количество осадка, который предположительно представляет собой частицы биопленовых трубок.

На фиг. 2 видно (67-кратное увеличение), что водная композиция из воды, 0,5% (мас./об.) дезоксихолата натрия и 0,9% (мас./об.) бензинового спирта содержит значительные количества осадка, который предположительно представляет собой кристаллы дезоксихолата.

На фиг. 3 видно (67-кратное увеличение), что водная композиция из воды, 1% (мас./об.) дезоксихо-

лата натрия и 0,9% (мас./об.) бензилового спирта содержит значительные количества осадка, хотя и меньшие, чем при 0,5% (мас./об.) дезоксихолата натрия. Как и ранее, осадок предположительно представляет собой кристаллы дезоксихолата.

На фиг. 4 видно (67-кратное увеличение), что водная композиция из воды 2% (мас./об.) дезоксихолата натрия и 0,9% (мас./об.) бензилового спирта содержит значительные количества осадка, однако, по существу, меньшие, чем на фиг. 2 и 3.

Подробное описание изобретения

В настоящей заявке некоторые термины имеют следующим образом определенные значения.

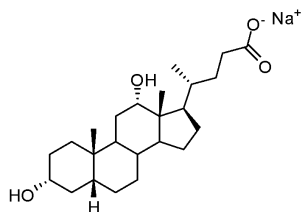
Все цифровые обозначения, например pH, температура, время, концентрация, и молекулярная масса, включая диапазоны, представляют собой приближенные значения с погрешностью $\pm 0,1$. Следует понимать, что, хотя это не всегда прямо указано, все численные значения предварены термином "приблизительно". Термин "приблизительно" включает также точное значение "X" помимо незначительно отличающихся от "X" значений, таких как "X + 0,1" или "X - 0,1". Также следует понимать, что, хотя это не всегда прямо указано, описанные в настоящей заявке реагенты являются исключительно иллюстративными, и что в данной области техники известны их эквиваленты.

В настоящей заявке термин "содержащий/включающий" подразумевает, что указанные композиции и способы содержат/включают перечисленные элементы, но не исключают наличия других элементов.

Термин "по существу состоящий из" при использовании для определения композиций и способов означает исключение любых активных ингредиентов. "Активный ингредиент" представляет собой вещество, предназначенное для придания фармакологической активности или обеспечения другого непосредственного эффекта при диагностике, излечении, облегчении, лечении или предотвращении заболевания, либо влияющее на структуру или любую функцию организма человека. Таким образом, например, композиция, по существу состоящая из элементов согласно определению в настоящей заявке, не исключает наличия следовых количеств примесей, обусловленных способом выделения и очистки, и фармацевтически приемлемых носителей, таких как забуференный фосфатом солевой раствор, консерванты и т.п., но исключает наличие ферментов, таких как фосфатазы, и белков. Неограничивающие примеры таких белков представлены гепарином, альбумином и т.п.

Термин "состоящий из" означает исключение более чем следовых количеств элементов других ингредиентов и значимых стадий способа введения композиций согласно настоящему изобретению. Варианты реализации, определяемые каждым из указанных переходных терминов, включены в объем настоящего изобретения.

В настоящей заявке термин "соль дезоксихолево́й кислоты" или "ее соль" относится к фармацевтически приемлемой соли (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-дигидрокси-10,13-диметилгексадекагидро-1H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)пентаноата, содержащей щелочной металл или ион аммония в качестве катиона. Предпочтительными являются соли щелочных металлов, при этом наиболее предпочтительны соли натрия.



Дезоксихолат натрия или (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-дигидрокси-10,13-диметилгексадекагидро-1H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)пентаноат натрия может быть получен в соответствии со способами, описанными в PCT/US2010/061150, озаглавленной "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid" ("Способы очистки дезоксихолево́й кислоты"), поданной 17 декабря 2010 г.

В настоящей заявке термин "водный фармацевтический состав" относится к композиции дезоксихолево́й кислоты или ее соли в воде, подходящей для введения пациенту, предпочтительно посредством подкожной инъекции с помощью шприца.

В настоящей заявке термин "буфер" относится к водному раствору, содержащему смесь слабой кислоты и ее сопряженного основания или слабого основания и его сопряженной кислоты. Свойства буфера таковы, что pH раствора изменяется очень незначительно при добавлении небольшого количества кислоты или основания. Буферные растворы используют в разнообразных химических приложениях в качестве средства поддержания pH на примерно постоянном уровне. Примеры подходящих буферов включают фосфатные буферы и описанные в литературе буферы (см., например, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

В настоящей заявке термин "основание" относится к различным, как правило, водорастворимым соединениям, молекулам или ионам, значения pH которых в растворе выше 7. Такие соединения, молекулы или ионы способны захватывать протон кислоты или способны отдавать неподеленную пару электронов кислоте. Примеры подходящих оснований включают карбонаты и бикарбонаты металлов, например карбонат натрия, карбонат кальция, карбонат магния, карбонат цинка, бикарбонат натрия и т.п.; и гидроксиды.

ды металлов, например гидроксид натрия, гидроксид калия и т.п., такие как известно из литературы (см., например, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

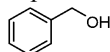
В настоящей заявке термин "карбонаты металлов" относится к соли металла с CO_3^{2-} . Например, карбонат натрия, карбонат кальция, карбонат магния, карбонат цинка и т.п.

В настоящей заявке термин "бикарбонаты металлов" относится к соли металла с HCO_3^- . Например, бикарбонат натрия и т.п.

В настоящей заявке термин "гидроксиды металла" относится к соли металла с OH^- . Например, гидроксид натрия, гидроксид калия и т.п.

В настоящей заявке термины "стерильная вода" или "вода для инъекций" относятся к стерильному, апирогенному препарату воды для инъекций, который не содержит бактериостатических средств, противомикробного агента или добавленного буфера. Как правило, осмолярная концентрация добавок составляет в общей сложности по меньшей мере 112 мОсм/л (2/5 от нормальной осмолярности внеклеточной жидкости - 280 мОсм/л).

В настоящей заявке термин "бензиловый спирт" относится к соединению



В настоящей заявке термин "выпадение в осадок/образование осадка/осаждение" относится к образованию твердого вещества в растворе, легко отличимому от образования геля.

В настоящей заявке термин "раствор" относится, по существу, к гомогенной степени смеси, содержащей два или более вещества, растворенных в растворителе.

В настоящей заявке термины "по существу, подавлять осаждение" и "подавляет осаждение" означают почти полное или полное подавление видимого образования осадка для поддержания гомогенности в течение периода времени в диапазоне от по меньшей мере 1 месяца до по меньшей мере 1 года.

В настоящей заявке термин "относительное стандартное отклонение гомогенности" или " H_E " относится к значению, получаемому делением стандартного отклонения указанной гомогенности на абсолютное значение среднего. Значение H_E менее 10 указывает на очень высокую гомогенность.

Составы.

Данные относительно химической и физической стабильности лекарственной композиции в нужной среде для доставки имеют большое значение. В долгосрочной перспективе стабильность указанной композиции определяет срок годности коммерческого продукта. Предпочтительно, чтобы активный ингредиент содержался в фармацевтической композиции в нужной концентрации при введении пациенту.

В приведенном ниже обсуждении дезоксихолат натрия упоминается исключительно в иллюстративных целях; следует понимать, что и другие фармацевтически приемлемые соли дезоксихолевой кислоты могут применяться взаимозаменяемо с натриевой солью.

Существующие клинические способы введения дезоксихолата натрия пациенту для разрушения жировой ткани включают введение посредством подкожных инъекций низкоконцентрированного (т.е. <2% (мас./об.)) водного раствора соли дезоксихолевой кислоты, количество соли дезоксихолевой кислоты в котором достаточно для лизирования жировых клеток (приблизительно 0,4% (мас./об.) и выше). При таких концентрациях, как было показано, низкая концентрация благоприятна для эффективного и безопасного удаления жировых отложений в организме. Тем не менее, образование осадка наблюдалось и при таких относительно низких концентрациях дезоксихолата натрия в водной среде. Указанное образование осадка приводит к ограничению срока годности водных растворов дезоксихолата натрия даже при низких температурах (3-5°C). Согласно одному варианту реализации указанная натриевая соль может быть замещена солью другого щелочного металла.

Такую нестабильность водных растворов дезоксихолата натрия можно обойти путем приготовления водного раствора дезоксихолата натрия в концентрации от приблизительно 5 до приблизительно 16% (мас./об.) и разбавления фармацевтической композиции указанного раствора дезоксихолата натрия непосредственно перед использованием, осуществляемого специалистом. Хотя способ с разведением эффективен как для обеспечения стабильности при хранении, так и для эффективного дозирования пациента, он не идеален в качестве способа для рутинного использования, в частности если требуемый объем стерильного инъекционного раствора не превышает приблизительно 2 мл. Кроме того, существующие клинические программы включают проведение до 50 инъекций за один курс лечения.

Было обнаружено, что водные составы дезоксихолата натрия в концентрациях, варьирующих от приблизительно 0,4 до менее чем приблизительно 2% (мас./об.) могут быть стабилизированы коррекцией pH указанного раствора. Настоящее изобретение относится к водному составу, по существу состоящему из соли дезоксихолевой кислоты в концентрации, варьирующей от приблизительно до менее чем приблизительно 2% (мас./об.), и, необязательно, фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, такого как эффективное в качестве консерванта количество бензилового спирта, и/или pH-корректирующего буфера, причем pH указанного состава сохраняется на уровне от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5.

Согласно другому варианту реализации указанный водный состав лиофилизируют для получения

стабильной композиции, готовой для восстановления добавлением надлежащего количества воды. Согласно указанному варианту реализации указанное изобретение включает лиофилизированные композиции согласно приведенному выше описанию, которые необязательно содержат также вспомогательный агент для лиофилизации.

Согласно одному варианту реализации указанный водный состав содержит приблизительно 0,5% (мас./об.) соли дезоксихолевой кислоты. Согласно другому варианту реализации указанный водный состав содержит приблизительно 1% (мас./об.) соли дезоксихолевой кислоты.

Согласно еще одному варианту реализации вода, используемая в указанном водном составе, представляет собой стерильную воду. Согласно еще одному варианту реализации эффективное в качестве консерванта количество бензилового спирта составляет приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта, а pH указанного состава составляет приблизительно 8,3. Согласно одному варианту реализации указанная соль представляет собой соль щелочного металла. Согласно другому варианту реализации указанная соль представляет собой натриевую соль.

Согласно одному варианту реализации фармацевтические составы согласно описанию в настоящей заявке подходят для инъектирования человеку. Способ инъектирования может быть любым, например представлять собой подкожные инъекции, а также другие типы инъекций.

В одном предпочтительном аспекте настоящего изобретения образование осадка соли дезоксихолевой кислоты в указанном водном составе подавляется на протяжении периода, составляющего по меньшей мере приблизительно шесть месяцев. Согласно другому аспекту образование осадка подавляется на протяжении периода, составляющего по меньшей мере приблизительно один год. Согласно еще одному аспекту образование осадка подавляется на протяжении периода, составляющего по меньшей мере приблизительно два года.

Предполагается, что при хранении при различных температурах, например при комнатной или при низкой температуре, срок годности указанного состава может увеличиваться. Согласно определенным вариантам реализации указанную композицию хранят при температуре от приблизительно 17 до приблизительно 27°C. Согласно некоторым вариантам реализации температуру указанного состава повышают от приблизительно 25 до приблизительно 37°C. Согласно другим вариантам реализации указанный состав хранят при температуре от приблизительно 2 до приблизительно 8°C.

Согласно определенным вариантам реализации pH указанного состава находится в диапазоне от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. Согласно одному варианту реализации pH указанной композиции составляет приблизительно 8,1, или, как вариант, приблизительно 8,2, или, как вариант, приблизительно 8,3, или, как вариант, приблизительно 8,4, или, как вариант, приблизительно 8,5. Согласно предпочтительному варианту реализации pH указанного состава составляет приблизительно 8,3.

Согласно одному варианту реализации pH задают за счет применения основания. Предполагается, что любое основание может применяться для повышения pH указанной композиции при условии, что оно не вступает в реакцию с дезоксихолатом натрия и не причиняет вреда пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации основание выбирают из группы, состоящей из карбонатов металлов, бикарбонатов металлов, гидроксидов металлов или их смеси. Примеры оснований включают, не ограничиваясь перечисленными, основания, выбранные из группы, состоящей из карбоната натрия, карбоната кальция, карбоната магния, карбоната цинка, бикарбоната натрия, гидроксида натрия и гидроксида калия или их смеси. Согласно одному варианту реализации основание представляет собой гидроксид натрия.

В определенных случаях pH указанной композиции при хранении может сохраняться на нужном уровне за счет применения буфера. В данной области техники известны различные буферы, и предполагается, что любой буфер, обладающий буферной емкостью при нужных значениях pH, может применяться в составах согласно описанию в настоящей заявке. Согласно одному варианту реализации указанный буфер представляет собой фосфатный буфер. Количество фосфата, необходимое для получения нужных значений pH и концентрации соли в композиции, может быть определено. Согласно одному варианту реализации указанная композиция содержит приблизительно 10 мМ фосфатный буфер. Согласно предпочтительному варианту реализации указанная композиция содержит приблизительно 10 мМ двуосновный натрий-фосфатный буфер.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит по меньшей мере одно вспомогательное вещество, способствующее приданию композиции нужных свойств, таких как повышенная растворимость, сохраняемость, или для получения изотонического раствора. Такие вспомогательные вещества известны в данной области техники. Согласно одному варианту реализации указанная композиция содержит приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия. Согласно другому варианту реализации указанная композиция содержит приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта. Согласно некоторым вариантам реализации указанная композиция содержит приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия.

Согласно некоторым вариантам реализации pH указанной композиции задают за счет применения основания и необязательно поддерживают за счет применения буфера.

Согласно предпочтительному варианту реализации в настоящем изобретении предложена стабили-

зированной композиции, содержащая фосфатный буфер с pH, составляющим приблизительно 8,3; приблизительно 0,5 или приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия; эффективное в качестве консерванта количество бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия, при этом указанной композиции придана устойчивость к осаждению.

Согласно еще одному варианту реализации фосфатный буфер представляет собой 10 мМ двуосновный натрий-фосфатный буфер.

Согласно одному варианту реализации эффективное в качестве консерванта количество бензилового спирта составляет приблизительно 0,9% (мас./об.).

Составы согласно описанию в настоящей заявке состоят из приблизительно 0,4 - менее чем приблизительно 2% (мас./об.) соли дезоксихолевой кислоты в воде, с pH, сохраняемым на уровне, достаточном для существенного подавления образования осадка соли дезоксихолевой кислоты. Степень осаждения или гомогенность указанной композиции могут быть измерены с применением различных способов. Например, они могут быть измерены количественно по светорассеянию при освещении композиции в спектрофотометре. Или, как вариант, гомогенность может быть измерена качественно с оценкой визуальной прозрачности указанного раствора на глаз. Согласно некоторым вариантам реализации относительное стандартное отклонение для гомогенности указанной композиции составляет менее чем приблизительно 5%. Как вариант, относительное стандартное отклонение для гомогенности указанной композиции составляет менее чем приблизительно 4%, или, как вариант, приблизительно 3%, или, как вариант, приблизительно 2%, или, как вариант, приблизительно 1%.

Согласно другому варианту реализации настоящее изобретение относится к композиции, по существу, состоящей из стерильного водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 0,5 или 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия, при этом указанная композиция устойчива к осаждению.

Согласно другому варианту реализации настоящее изобретение относится к композиции, состоящей из водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 0,5 или приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия, при этом указанная композиция устойчива к осаждению.

Согласно некоторым вариантам реализации растворы согласно настоящему описанию не включают липиды, фосфолипиды или фосфатидилхолин. Согласно некоторым вариантам реализации растворы согласно настоящему описанию включают до 5% (мас./мас., мас./об. или об./об.) липидов, в частности фосфолипидов, или, более конкретно, фосфатидилхолина. Предпочтительно используется количество липидов меньшее, чем количество дезоксихолата натрия или другой соли дезоксихолевой кислоты.

Согласно некоторым вариантам реализации водная фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может также содержать второй терапевтический агент, выбранный из группы, состоящей из антимикробных агентов, сосудосуживающих агентов, антитромботических агентов, антикоагулянтов, подавляющих пенообразование агентов, противовоспалительных агентов, анальгетиков, дисперсионных агентов, антидисперсионных агентов, веществ, способствующих проникновению, стероидов, транквилизаторов, миорелаксантов и противодиарейных агентов. Согласно некоторым вариантам реализации раствор находится в контейнере, который содержит до 500 мл раствора. Такой контейнер может представлять собой шприц или подходящий для наполнения шприца контейнер.

Согласно некоторым вариантам реализации указанные составы также содержат молекулу, которая по имеющимся сведениям вызывает гибель жировой ткани за счет ортогонального механизма. Такие молекулы включают антагонисты нейрпептида Y (NPY), включая, но не ограничиваясь перечисленными, антагонисты рецепторов NPY, такие как BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 и AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 и GW438014S (GlaxoSmith-Kline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BII0246 и S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), дигидропиридин и производные дигидропиридина, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY, бициклические соединения, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY, карбазольные антагонисты рецепторов NPY и трициклические соединения, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY (см., например, WO 2006/133160 и U.S. 6313128). Также включены нацеленные на жировую ткань проапоптотические пептиды, такие как CKGGRAKDC-пептид, направлен на мигрирующий в сосуды белой жировой ткани (см. Kolonin M.G. et al., Nat. Med., 2004, 10(6): 625-32).

Другой аспект изобретения относится к смешиванию жирорастворяющих желчных кислот, таких как дезоксихолевая кислота (ДХК), с агентами, приводящими к гибели жировых клеток. Согласно одному аспекту настоящее изобретение охватывает способы повышения эстетических эффектов инъектирования дезоксихолата посредством введения в инъектат дезоксихолата молекулы, вызывающая гибель жировой ткани за счет ортогонального механизма. Примеры таких кандидатных молекул включают, не ограничиваясь перечисленными, антагонисты нейрпептида Y (NPY) и нацеленные на жировую ткань проапоптотические пептиды. Так как киллинг жировых клеток может быть необходим для опосредования требуе-

мых эффектов, эффекты агента, способного разрушать жировую ткань, могут быть усилены за счет добавления молекулы, которой свойственны мощные киллинг-эффекты в отношении жировых клеток. Кроме того, молекулы, которым для киллинга требуется доступ к сосудистой системе (такие как определенные проапоптотические пептиды, связывающиеся с белками, экспрессируемыми на люминальной поверхности капилляров), могут получать доступ к указанным белкам, так как дезоксихолат может вызывать пропотевание через стенки сосудов. Таким образом, такие агенты могут действовать синергетически с дезоксихолатом, что дает потенциально более действенный способ преобразования контуров тела за меньшее количество терапевтических сеансов.

Примеры антагонистов NPY включают, не ограничиваясь перечисленными, антагонисты рецепторов NPY, такие как BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 и AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 и GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIE0246 и S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), производные дигидропиридина, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY, бициклические соединения, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY, карбазольные антагонисты рецепторов NPY и трициклические соединения, представляющие собой антагонисты рецепторов NPY; см., например, WO 2006/133160 и U.S. 6313128.

Типовые нацеленные на жировую ткань проапоптотические пептиды включают, не ограничиваясь указанным, пептид CKGGRAKDC, который направленно мигрирует в сосуды белой жировой ткани; см. Kolonin M.G. et al., Nat. Med. June 10(6):625-32 (2004).

Дезоксихолат натрия, или натрия (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-дигидрокси-10,13-диметилгексадекагидро-1H-циклопента[а]фенантрен-17-ил)пентаноат, может быть получен в соответствии со способами, описанными в PCT/US2010/061150, озаглавленной "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid" ("Способы очистки дезоксихолевой кислоты"), поданной 17 декабря 2010 г. Другие соли дезоксихолевой кислоты могут быть получены сходным образом специалистом в данной области техники.

Способы.

Предложены способы стабилизации водного состава соли дезоксихолевой кислоты для предотвращения образования осадка при хранении, отличающиеся тем, что концентрация соли представляет собой количество, эффективное для лизирования жировых клеток, при условии, что указанное количество соли находится в диапазоне от приблизительно 0,4 до приблизительно менее чем 2% (мас./об.); указанный способ включает получение водного раствора соли дезоксихолевой кислоты при исходном pH выше его pKa; доведение pH указанного водного раствора до pH, составляющего от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5; и необязательно включение достаточного количества буфера для поддержания pH на уровне от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения способы согласно описанию в настоящей заявке обеспечивают существенную стабилизацию состава с солью дезоксихолевой кислоты, предотвращая образование осадка на протяжении периода времени, предпочтительно составляющего по меньшей мере приблизительно шесть месяцев. Согласно другому аспекту указанные способы обеспечивают стабилизацию состава с солью дезоксихолевой кислоты, предотвращая образование осадка на протяжении периода, составляющего по меньшей мере приблизительно один год. Согласно еще одному аспекту указанные способы обеспечивают стабилизацию состава с солью дезоксихолевой кислоты, предотвращая образование осадка на протяжении периода, составляющего по меньшей мере приблизительно два года.

Было обнаружено, что pH указанного раствора может подавлять образование осадка дезоксихолевой кислоты или ее соли при концентрациях от приблизительно 0,4 до менее чем приблизительно 2% (мас./об.) в воде, обеспечивая поддержание дезоксихолевой кислоты или ее соли в растворе. Согласно одному варианту реализации pH задают за счет применения оснований. Предполагается, что любое основание может применяться для повышения pH указанной композиции при условии, что оно не вступает в реакцию с дезоксихолевой кислотой или ее солью. Согласно некоторым вариантам реализации основание выбирают из группы, состоящей из карбонатов металлов, бикарбонатов металлов и гидроксидов металлов или их смеси. Примеры оснований включают, не ограничиваясь перечисленными, основания, выбранные из группы, состоящей из карбоната натрия, карбоната кальция, карбоната магния, карбоната цинка, бикарбоната натрия, гидроксида натрия и гидроксида калия или их смеси. Согласно одному варианту реализации указанное основание представляет собой гидроксид натрия.

Согласно определенным вариантам реализации pH находится в диапазоне от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. Согласно одному варианту реализации pH указанной композиции составляет приблизительно 8,1, или, как вариант, приблизительно 8,2, или, как вариант, приблизительно 8,3, или, как вариант, приблизительно 8,4, или, как вариант, приблизительно 8,5. Согласно предпочтительному варианту реализации pH указанного водного раствора составляет приблизительно 8,3.

В определенных случаях может быть необходимо поддерживать pH указанной композиции за счет применения буфера. Различные буферы известны в данной области техники и предполагается, что любой буфер, обладающий буферной емкостью при нужных значениях pH, может применяться в составах со-

гласно описанию в настоящей заявке. Согласно одному варианту реализации указанный буфер представляет собой фосфатный буфер. Количество фосфата, необходимое для получения нужных значений pH и концентрации соли, может быть рассчитано с применением способов, общеизвестных в данной области техники. Согласно одному варианту реализации указанная композиция содержит приблизительно 10 mM фосфатный буфер. Согласно другому варианту реализации фосфатный буфер представляет собой 10 mM двусосновный натрий-фосфатный буфер.

В определенных случаях pH задают за счет применения основания и необязательно поддерживают за счет применения буфера.

Согласно одному варианту реализации с применением способов согласно описанию в настоящей заявке получают составы, подходящие для инъектирования человеку. Способ инъектирования может быть любым, например представлять собой подкожную инъекцию, а также другие типы инъекций. Соответственно согласно некоторым вариантам реализации указанный водный раствор содержит стерильную воду или воду для инъекций (WFI).

Согласно одному аспекту может применяться одно или более вспомогательное вещество для поддержания растворимости или повышения сохраняемости соли дезоксихолевой кислоты, присутствующей в указанном составе. Согласно одному варианту реализации указанный способ включает добавление приблизительно 1% (мас./об.) бензилового спирта. Согласно некоторым вариантам реализации указанный состав также содержит по меньшей мере одно вспомогательное вещество, способствующее получению изотонического раствора. Такие вспомогательные вещества известны в данной области техники. Согласно одному варианту реализации указанный способ включает добавление приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ включает добавление и 1% (мас./об.) бензилового спирта, и 1% (мас./об.) хлорида натрия. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ включает добавление и 0,9% (мас./об.) бензилового спирта, и 0,9% (мас./об.) хлорида натрия. С применением способов согласно описанию в настоящей заявке значения pH водного раствора, содержащего менее чем приблизительно 2% (мас./об.) соли дезоксихолевой кислоты, поддерживают на уровне, достаточном для существенного подавления образования осадка соли дезоксихолевой кислоты. Степень осаждения или гомогенность указанной композиции могут быть измерены с применением различных способов. Например, они могут быть измерены количественно измерением с помощью спектрофотометра светорассеяния при освещении. Или, как вариант, гомогенность может быть измерена качественно с помощью оценки визуальной прозрачности указанного раствора непосредственно на глаз. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ обеспечивает получение фармацевтической композиции с относительным стандартным отклонением для гомогенности, составляющим менее чем приблизительно 5%. Как вариант, указанное относительное стандартное отклонение для гомогенности составляет менее чем приблизительно 4%, или, как вариант, приблизительно 3%, или, как вариант, приблизительно 2%, или, как вариант, приблизительно 1%.

Температура хранения может способствовать поддержанию растворимости соли дезоксихолевой кислоты в указанном составе. Согласно определенным вариантам реализации температура хранения составляет от приблизительно 17 до приблизительно 27°C. Согласно некоторым вариантам реализации температура хранения составляет приблизительно 25 до приблизительно 37°C. Согласно другим вариантам реализации температура хранения составляет от приблизительно 2 до приблизительно 8°C.

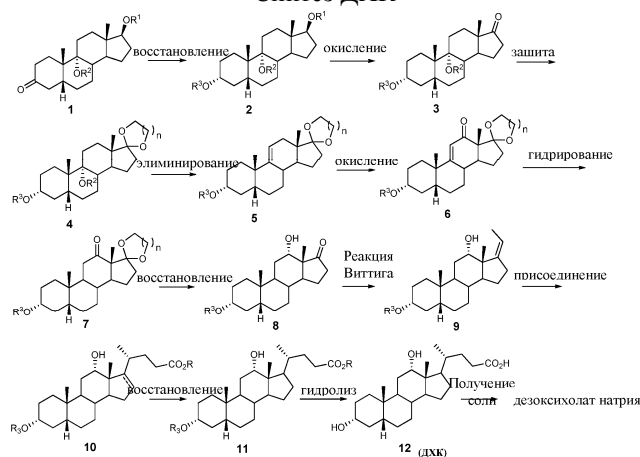
Предполагается, что концентрация соли дезоксихолевой кислоты в указанном составе составляет приблизительно 0,5% (мас./об.), или, как вариант, приблизительно 0,7% (мас./об.), или, как вариант, приблизительно 1% (мас./об.), или, как вариант, приблизительно 1,2% (мас./об.), или, как вариант, приблизительно 1,4% (мас./об.), или, как вариант, менее чем приблизительно 2% (мас./об.). Согласно предпочтительному варианту реализации указанная соль дезоксихолевой кислоты представляет собой дезоксихолат натрия. Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанная композиция содержит 0,5% (мас./об.) дезоксихолата натрия. Согласно другому предпочтительному варианту реализации указанная композиция содержит 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия.

Согласно одному варианту реализации указанный водный состав разделен на несколько отдельных растворов, которые по отдельности вводят в жировые клетки. Например, водный состав разделен на 5, 10, 15, 20, 25 или 30 отдельных растворов и, в некоторых случаях, до 50 отдельных растворов.

Согласно предпочтительному варианту реализации указанная соль дезоксихолевой кислоты представляет собой дезоксихолат натрия. Так как способы, предложенные в настоящем изобретении, включают подкожные инъекции, также предложен шприц, содержащий камеру, плунжер и инъекционную иглу, причем камера содержит состав согласно настоящему изобретению. Предпочтительно указанная камера имеет достаточный объем, чтобы вмещать по меньшей мере 2 и предпочтительно не более 4 мл указанного состава.

Согласно другому варианту реализации в настоящем изобретении предложен синтез ДХК из защищенного коммерчески доступного 9- α ,17- β -дигидрокси-5- α -андростан-3-она согласно приведенной ниже схеме.

Синтез ДХК



9-α,17-β гидроксильные группы коммерчески доступного 9-α,17-β-дигидрокси-5-α-андростан-3-она дифференциально защищены гидроксильными защитными группами, которые могут быть удалены в условиях, когда одну из указанных гидроксильных групп регенерируют, в то время как другая гидроксильная группа остается защищенной. Такую дифференциальную защиту называют ортогональной защитой, и для нее используют общеизвестные реагенты и условия реакции. Согласно одному примеру одна гидроксильная группа защищена как ацетильная группа, при этом другая гидроксильная группа защищена как бензильная группа. Каждая группа может быть выборочно удалена в таких условиях реакции, которые позволяют сохранить другие гидроксильные защитные группы интактными.

Предполагается, что относительно защищенная стерически 9-α-гидроксильная группа может не нуждаться в защите, так как реакции, проведение которых предусмотрено перед элиминированием этой группы, в указанном положении предположительно ингибированы из-за стерической затрудненности. Тем не менее, защита гидроксильной группы надежно гарантирует интактность указанной группы до тех пор, пока не потребуются элиминирование указанной гидроксильной группы посредством дегидратации. 3-оновую группу ортогонально защищенного 9-α,17-β-дигидрокси-5-α-андростан-3-она, соединения 1, восстанавливают стандартным восстанавливающим агентом, таким как борогидрид натрия, для получения 3-α-гидроксипроизводного, которое затем защищают еще одной группой ортогональной защиты для получения соединения 2.

Гидроксильную защитную группу в положении 17 соединения 2 затем выборочно удаляют; регенерированную таким образом гидроксильную группу затем окисляют подходящим реагентом-окислителем, таким как CrO_3 , для получения 17-кетопроизводного, соединения 3. 17-кетогруппу соединения 3 защищают как кетальную группу в стандартных условиях кетализации, таких как реакция с 1,2-дигидроксипропаном или 1,3-дигидроксипропаном, с получением соединения 4 (образование таким образом кетальной группы с 1,2-дигидроксипропаном представлено исключительно в иллюстративных целях).

После снятия надлежащим образом защиты 9-α-гидроксильной группы проводят дегидратацию указанной гидроксильной группы в таких условиях, как катализируемое кислотой элиминирование, что дает 9,10-ненасыщенное производное, соединение 5. Синтез 12-кетогруппы осуществляют с помощью аллильного окисления соединения 5 реагентами-окислителями, такими как хромовая кислота или ТБГП (трет-бутил гидропероксид), и NaOCl , с получением соединения 6; см., например, заявку на патент США сер. № 61/348686. Как вариант, аллильное окисление осуществляют с применением приблизительно 2-5 эквивалентов ТБГП и приблизительно 0,3-0,5 экв. CuI в качестве катализатора. Указанную реакцию проводят в растворителе, таком как ацетонитрил, при 40°C на протяжении приблизительно 40-55 ч. Медленное добавление ТБГП отдельными порциями приводит к более эффективному окислению. Образующийся продукт содержит смесь соединения 6 и соответствующего аллильного спирта. Полученную смесь затем окисляют ПХХ с получением соединения 6.

Гидрирование соединения 6 в стандартных условиях, таких как 10% Pd/C и H_2 , дает соединение 7. Восстановление 12-кетогруппы соединения 7 такими реагентами, как $\text{LiAl}(\text{OBu})_3\text{H}$, дает 12-гидроксипроизводное, соединение 8. Олефинирование соединения 8 в стандартных условиях реакции Виттига, например, с применением бромида этилтрифенилфосфония в присутствии основания, такого как трет-бутоксид калия, дает соединение 9. Добавление алкилакрилата, такого как метилакрилат, в присутствии кислоты Льюиса дает соединение 10, где R представляет собой алкильную группу, такую как метил. Восстановление двойной связи соединения 10 также происходит в стандартных условиях гидрирования, таких как Pd/C и H_2 , с получением соединения 11. Снятие защиты 3- OR_3 с последующим гидролизом основанием, таким как LiOH , дает ДХК, соединение 12.

Соединение 12 (неочищенную ДХК) затем очищали, промывая метиловым спиртом, и рекристаллизовали из этанола. Разбавляли 2% (мол.%) MeOH в CH_2Cl_2 (25 об.) и нагревали до 35-37°C в течение 1 ч.

Этой массе давали остыть до 28-30°C и фильтровали. Фильтрационный осадок промывали CH_2Cl_2 (5 об.) и высушивали под вакуумом при 40°C с получением ДХК.

ДХК растворяли в 10% деионизированная вода/EtOH (12 об.), проводили тонкую фильтрацию через целит и промывали 10% деионизированной водой/EtOH (3 об.). Полученные 15 об. фильтрата добавляли в деионизированную воду (30 об.) и получали тонкодисперсную белую массу. Указанную массу выдерживали в течение 24 ч, фильтровали, промывали деионизированной водой (20 об.) и высушивали под вакуумом при 40°C с получением ДХК.

Преобразование ДХК в фармацевтически приемлемую соль, такую как дезоксихолат натрия, протекает в стандартных условиях. И наоборот, преобразование фармацевтически приемлемой соли ДХК, такой как дезоксихолат натрия, в ДХК также протекает в стандартных условиях.

Согласно другому варианту реализации в настоящем изобретении предложен стабилизированный состав, содержащий забуференный водный раствор с рН, составляющим от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5, содержащий также приблизительно 0,5% дезоксихолата натрия и приблизительно 0,9% бензилового спирта, при этом указанному составу придана устойчивость к осаждению, и дезоксихолат натрия получают в соответствии со схемой 1.

Согласно другому варианту реализации в настоящем изобретении предложен стабилизированный состав, содержащий забуференный водный раствор с рН, составляющим от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5, содержащий также приблизительно 1% дезоксихолата натрия и приблизительно 0,9% бензилового спирта, при этом указанному составу придана устойчивость к осаждению и дезоксихолат натрия получают в соответствии со схемой 1.

Примеры

В примерах и везде в тексте настоящего описания сокращения имеют следующие значения:

мг	=	Миллиграмм
мл	=	Миллилитр
мм	=	Миллиметр
мМ	=	Миллимоль
Т	=	Время
УФ	=	Ультрафиолет
по объему	=	Объем / объем
(масс./об.)	=	Масса / объем (г/мл)
по массе	=	Масса / масса
WFI	=	Вода для инъекций
мОсм	=	Миллиосмоль

Ниже настоящее изобретение объясняется подробнее на примерах, предназначенных исключительно для иллюстрирования настоящего изобретения.

Пример 1. Зависимое от концентрации выпадение осадка в растворе дезоксихолата натрия.

Образование осадка оценивали в растворах разных концентраций дезоксихолата натрия после 1 недели хранения. Результаты приведены на фиг. 1-4, и они указывают на то, что при приблизительно 0,5 и при приблизительно 1% ((мас./об.)) концентрации дезоксихолата натрия в водном растворе, содержащем только воду и 0,9% (мас./об.) бензилового спирта, образуется значительное количество осадка, что препятствует применению указанного раствора в качестве композиции для подкожного инъектирования. С помощью визуального осмотра фиг. 1-4 можно получить оценки степени образования осадка, приведенные в таблице ниже.

Таблица 1

% (мас./об.) дезоксихолата натрия	Степень осаждения	Комментарий
0	1	Образование осадка практически невозможно заметить невооруженным глазом
0,5	10	Значительные количества осадка можно заметить невооруженным глазом
1,0	7	Невооруженным глазом можно заметить значительные количества осадка, но менее чем для концентрации 0,5% (мас./об.)
2,0	2	Образование осадка можно заметить невооруженным глазом, но количество осадка значительно меньше по сравнению с перечисленными выше 0,5% и 1% растворами

При оценке степени осаждения считают, что "0" относится к не содержащему осадка раствору, а "10" означает, что в смеси наблюдается образование существенного количества осадка, легко различимого невооруженным глазом.

Такие наблюдения показывают, что в протестированных диапазонах концентраций на образование осадка существенно влияет концентрация дезоксихолата. Для уточнения влияния рН на образование осадка были измерены значения рН указанных растворов, приведенные в табл. 2, в результате чего было показано, что значения рН указанных растворов, по существу, были одинаковыми, в частности в 1 и 2% растворах. Инверсная водорастворимость дезоксихолата натрия, за счет которой в более разбавленном растворе (0,5 или 1%) образуется больше осадка, чем в более концентрированном растворе (2%), представляет собой неожиданное наблюдение, и также указывает на то, что явление образования осадка не

связано непосредственно с pH, так как значения pH указанных растворов были также, по существу, одинаковы, в частности в 1 и 2% растворах.

Таблица 2

% (масс./об.) дезоксихолата натрия	Измерение №	Температура/ °С	pH
0	1	24,0	7,75
0	2	24,1	7,58
0,5	1	24,7	7,77
0,5	2	24,5	7,71
1	1	24,6	7,93
1	2	24,5	7,97
2	1	24,9	8,07
2	2	24,7	8,06

Соответственно в настоящем изобретении предложен способ подавления неожиданного образования осадка в разбавленных растворах, содержащих от 0,4 до менее чем 2% (мас./об.) соли дезоксихолево-й кислоты, до степени, позволяющей применять такие растворы для подкожных инъекций, за счет повышения pH раствора.

Пример 2. Составы дезоксихолата натрия (АФИ), содержащие бензиловый спирт и не содержащие бензинового спирта.

1. Получали композицию дезоксихолата натрия (0,5 и 1%), содержащую фосфат натрия (10 мМ), хлорид натрия (75-90 мМ), бензиловый спирт (0,9%), дезоксихолево-ую кислоту, с pH 8,3.

2. Получали изотоническую композицию дезоксихолата натрия без бензинового спирта с применением свободной кислоты, а именно дезоксихолево-ой кислоты, следующим образом.

а. Получение изотонических партий объемом по 100 мл с концентрацией 10 мг/мл.

1,0 г дезоксихолево-ой кислоты (ДХК) добавляли в указанный раствор только после получения основного раствора из 70 мл воды, 142 мг безводного двуосновного фосфата натрия и 267 мкл 10 М NaOH. Растворение АФИ занимало приблизительно 20 мин. Значение pH указанного раствора составляло 11,1. Известно, что быстрое добавление HCl вызывает некоторое осаждение, так что 225 мкл 1 М HCl добавляли медленно для доведения pH до 8,3 указанного раствора. Раствор оставляли для смешивания еще на 15 мин. После доведения объема до 100 мл водой наблюдалось значение осмоляльности 51 мОсм. Добавлением 859 мг NaCl осмоляльность доводили до 305 мОсм.

Полученный таким образом раствор может необязательно быть лиофилизирован для получения лиофилизированного продукта, который может быть восстановлен добавлением надлежащего количества стерильной воды. Соответственно в настоящем изобретении предложены также лиофилизированные продукты растворов согласно описанию в настоящей заявке.

б. Получение изотонических партий объемом по 1000 мл с концентрацией 10 мг/мл.

Результаты, описанные в разделе (а) (выше), не воспроизводятся идеально при увеличении масштаба в 10 раз. К 900 мл воды добавляли 1,4 г безводного двуосновного фосфата натрия, 8,6 г NaCl и 2,7 мл 10 М NaOH. Затем добавляли 10,0 г ДХК и оставляли для перемешивания до прозрачности в течение 30 мин. Значение pH указанного раствора составляло 10,4. Медленно добавляли 1,5 мл 1 М HCl и оставляли для перемешивания на 5 мин. Конечное значение pH составляло 8,1. Дополнительно необходимо было добавить 20 мкл 10 М NaOH для доведения pH до 8,3. После доведения объема до 1000 мл водой осмоляльность составляла 314 мОсм.

На основании наблюдений за изменением pH в ходе добавления 1 М HCl было установлено, что для 1000 мл партии при концентрации АФИ 10 мг/мл в самом начале необходимо добавлять всего 1,0 мл 1 М HCl, а затем медленно проводить титрование, добавляя небольшие объемы кислоты. Предлагаемый порядок добавления для 1000 мл с концентрацией АФИ 10 мг/мл приведен в табл. 3.

с. Получение изотонических партий по 100 мл с концентрацией 5 мг/мл.

0,50 г дезоксихолево-ой кислоты (ДХК) добавляли к раствору только после получения основного раствора из 70 мл воды, 142 мг безводного двуосновного фосфата натрия и 134 мкл 10 М NaOH. Растворение АФИ занимало приблизительно 20 мин. Значение pH составляло 10,7. Известно, что быстрое добавление HCl вызывает некоторое осаждение, поэтому 115 мкл 1 М HCl добавляли медленно для доведения pH раствора до 8,3. Указанный раствор оставляли для перемешивания еще на 15 мин. После доведения объема до 100 мл водой наблюдалось значение осмоляльности 39 мОсм. Добавлением 859 мг NaCl довели значение осмоляльности до 294 мОсм.

д. Получение изотонических партий по 1000 мл с концентрацией 5 мг/мл.

Результаты, описанные в разделе (с) (выше), не воспроизводятся идеально при увеличении масштаба в 10 раз. К 900 мл воды добавляли 1,4 г безводного двуосновного фосфата натрия, 8,6 г NaCl и 1,3 мл 10 М NaOH. Затем добавляли 5,0 г ДХК и оставляли на 30 мин для смешивания до прозрачности. Значение pH составляло 8,6. После добавления всего 350 мкл 1 М HCl значение pH падало до 8,0. Дополнительно необходимо было добавить 25 мкл 10 М NaOH для доведения pH до 8,4. После доведения объема до 1000 мл водой осмоляльность составляла 305 мОсм. На основании наблюдений за изменением pH в

ходе добавления 1 М НСl было установлено, что для партии объемом 1000 мл при концентрации АФИ 5 мг/мл необходимо медленно проводить титрование, добавляя небольшие объемы 1 М НСl. Предлагаемый порядок добавления для 1000 мл с концентрацией АФИ 5 мг/мл приведен в табл. 3.

Таблица 3

Порядок добавления (слева направо) для 1000 мл
изотонического не содержащего бензилового спирта состава

Концентрация АФИ	Двуосновный безводный фосфат натрия	10М NaOH	ДХК	NaCl	1М НСl	pH
10 мг/мл	1,4 г	2,7 мл	10,0 г	8,6 г	1,0 мл + постепенное добавление до достижения конечного pH	8,3
5 мг/мл	1,4 г	1,3 мл	5,0 г	8,6 г	постепенное добавление до достижения конечного pH	8,3

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устойчивая к осаждению водная композиция для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящая, по существу, из от приблизительно 0,5 до приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия и фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, при этом указанная композиция имеет pH от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанный дезоксихолат натрия присутствует в количестве, составляющем приблизительно 0,5% (мас./об.).

3. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанный дезоксихолат натрия присутствует в количестве, составляющем приблизительно 1% (мас./об.).

4. Композиция по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество представляет собой растворитель, буфер, консервант, вспомогательный агент для лиофилизации или любую их комбинацию.

5. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что вода, используемая в водной композиции, представляет собой стерильную воду.

6. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что указанное вспомогательное вещество представляет собой консервант.

7. Композиция по п.6, отличающаяся тем, что указанный консервант представляет собой бензиловый спирт.

8. Композиция по п.6, отличающаяся тем, что указанный консервант представляет собой 0,9% бензиловый спирт.

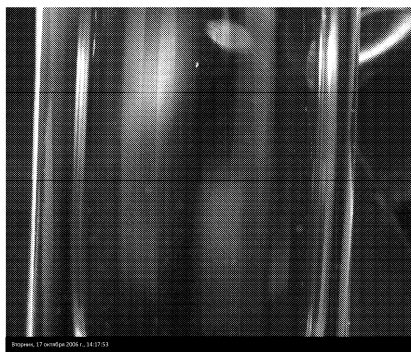
9. Композиция по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что pH указанной композиции составляет приблизительно 8,3.

10. Устойчивая к осаждению водная композиция для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящая, по существу, из стерильного водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 0,5% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия.

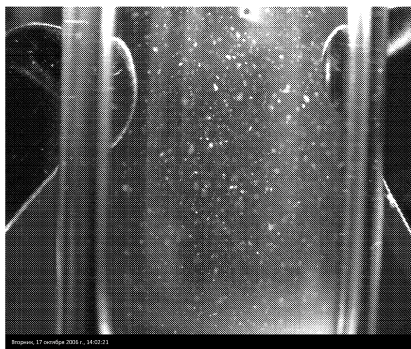
11. Устойчивая к осаждению водная композиция для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции, состоящая, по существу, из водного раствора, забуференного до pH, составляющего приблизительно 8,3; приблизительно 1% (мас./об.) дезоксихолата натрия; приблизительно 0,9% (мас./об.) бензилового спирта и приблизительно 1% (мас./об.) хлорида натрия.

12. Способ лизирования жировой клетки, включающий введение к указанной клетке композиции по любому из пп.1-11.

13. Применение композиции по любому из пп.1-11 для лизирования жировых клеток путем подкожной инъекции.



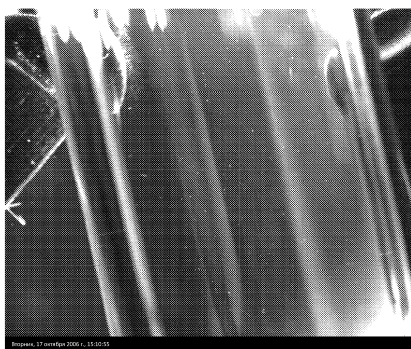
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

