

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036982**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

- | | |
|---|--|
| (45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.22 | (51) Int. Cl. <i>A61K 9/16</i> (2006.01)
<i>A61K 9/19</i> (2006.01)
<i>A61K 9/08</i> (2006.01)
<i>A61K 47/10</i> (2006.01)
<i>A61K 31/407</i> (2006.01)
<i>A61K 47/18</i> (2017.01)
<i>A61K 47/26</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки
201690793 | |
| (22) Дата подачи заявки
2014.10.16 | |

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ МИТОМИЦИН С

- | | |
|--|----------------------------|
| (31) 13189775.3 | (56) CN-A-101204382 |
| (32) 2013.10.22 | CN-A-1712014 |
| (33) EP | US-A1-2009162440 |
| (43) 2016.08.31 | EP-A1-0782850 |
| (86) PCT/EP2014/072201 | GB-A-2171408 |
| (87) WO 2015/059023 2015.04.30 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МЕДАК ГЕЗЕЛЬШАФТ
ФЮР КЛИНИШЕ
ШПЕЦИАЛЬПРЕПАРАТЕ МБХ (DE) | |
| (72) Изобретатель:
Шульдт-Либ Зонья, Биаллек
Себастьян, Гуде Инго, Реберг Михаэла
(DE) | |
| (74) Представитель:
Харин А.В., Буре Н.Н. (RU) | |

(57) Изобретение относится к способу получения лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей митомицин С, в котором лиофилизируют раствор митомицина С, причем раствор содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола. Изобретение также относится к лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей митомицин С, полученной заявленным способом, и раствору, содержащему митомицин С, для лиофилизации, который содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола. Изобретение обеспечивает лиофилизированные композиции митомицина С, характеризующиеся высокой стабильностью и чистотой, а также быстро и полностью восстанавливаемые с образованием растворов, готовых к применению, имеющих высокую концентрацию активного ингредиента.

036982 B1

036982 B1

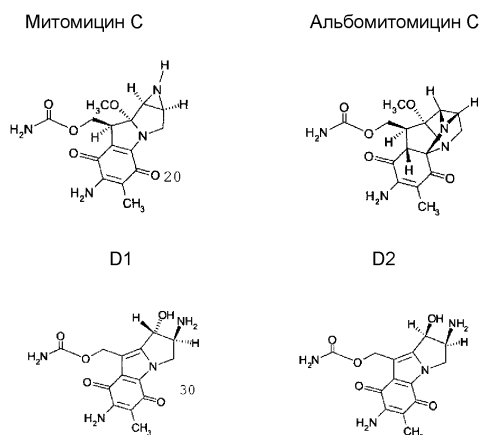
Изобретение относится к способу получения лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей митомицин С, характеризующейся высокой стабильностью и чистотой, и которая может быть быстро растворена с образованием готовых к применению растворов.

Митомицин С, химическое название (1aS,8S,8aR,8bS)-6-амино-8-[[[аминокарбонил]окси]метил]-1,1a,2,8,8a,8b-гексагидро-8a-метокси-5-метилазирино[2',3':3,4]пирроло[1,2-a]индол-4,7-дион или 6-амино-8a-метокси-5-метил-4,7-диоксо-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-октагидроазарино[2',3':3,4]пирроло[1,2-a]индол-8-илметил карбамат, впервые был выделен из *Streptomyces caespitosus* в 1958 году (см. Wakaki et al., *Antibiotics and Chemotherapy*, 8, 228, 1958 и GB 830874). Он обладает превосходным противораковым действием и может использоваться в особенности для лечения опухолей мочевого пузыря, рака желудка, рака легкого, рака поджелудочной железы, рака прямой кишки, рака молочной железы, гепатоклеточной карциномы, рака шейки матки, рака пищевода, карциномы области головы и шеи, хронического миелолейкоза и остеосаркомы. Он используется в форме водных растворов для инъекции или инфузии или растворов для интравезикального применения.

В US 5216011 описаны растворы митомицина С, которые могут вводиться, например, путем инъекции. Эти растворы предназначены для того, чтобы избежать сложностей при приготовлении лиофилизированных препаратов. Растворы в качестве растворителя содержат от 40 до 100 об.% пропиленгликоля и от 0 до 60 об.% воды.

Кроме того, в соответствии с DE 19957371 известен водный раствор митомицина С, который содержит буфер, и имеет рН в диапазоне от 6,0 до 9,0. Дополнительно раствор характеризуется специфическим соотношением концентрации митомицина С с ионной силой буфера. Тем не менее, срок годности приготовленных растворов митомицина является не достаточным, поскольку содержание активного ингредиента значительно снижается во время хранения. По этой причине митомицин С получают в форме лиофилизатов или безводных порошков, и эти лекарственные формы должны быть разведены непосредственно перед введением при помощи стерильного разбавителя с получением растворов для применения. Лيوфилизаты имеются в продаже, например, под маркой "Mitem". В продаже имеется безводный порошок, например, в смеси с NaCl, например, под маркой "Mito-medac".

Тем не менее, имеющиеся в продаже лиофилизаты обладают недостатком, заключающимся в том, что они обладают относительно коротким сроком годности, составляющим максимально два года. Это является следствием высокой нестабильности митомицина С, который легко деградирует в растворе для лиофилизации с образованием продуктов деградации. Основные продукты деградации представляют собой альбомитомицин С, D1 и D2, структурные формулы которых представлены вместе с формулой митомицина С ниже



Хотя безводный порошок митомицина С обладает более длительным сроком годности, составляющим приблизительно четыре года, он обладает недостатком, заключающимся в образовании пыли при его производстве, что приводит в результате к загрязнению, угрожающему здоровью персонала, и загрязнению производственного оборудования. Длительный период времени, необходимый для полного растворения этого безводного порошка, также является неудовлетворительным.

В известных лиофилизатах и безводных порошках для растворения с получением растворов обычно содержится 20 мг митомицина для получения конечных концентраций 1 мг/мл митомицин С, например, на 20 мл воды или изотонического физиологического раствора (0,9 мас.%). Известны также меньшие концентрации после растворения до 0,2 и 0,15 мг/мл для офтальмологических применений. Тем не менее, более высокая окончательная концентрация в воде не возможна вследствие плохой растворимости известных продуктов, для которых приводимая в литературе концентрация насыщения в растворе составляет 0,5-1,0 мг/мл.

Таким образом, целью изобретения является избежать недостатков известных лиофилизатов и безводных порошков, и в частности, обеспечить способ получения лиофилизированной фармацевтической композиции митомицина С, причем способ не приводит к значительному снижению содержания активного ингредиента и приводит к получению композиции, обладающей высокой стабильностью и чисто-

той, и, таким образом, проявляющей лишь незначительную деградацию лекарственного средства даже после продолжительного хранения. Дополнительно, получаемая фармацевтическая композиция должна быть быстро и полностью восстанавливаемая с образованием растворов, готовых к применению, которые могут иметь высокую концентрацию активного ингредиента. Указанная цель достигается при помощи способа по пп.1-8. Изобретение также представляет собой лиофилизированную фармацевтическую композицию по пп.9-13 и раствор, содержащий митомицин С, по п.14.

Заявленный способ получения лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей митомицин С, отличается тем, что лиофилизируют раствор митомицина С, причем раствор содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола.

Раствор, подлежащий лиофилизации согласно способу, также обозначен ниже как "раствор для лиофилизации".

Растворение митомицина С в смеси трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола, неожиданно приводит к раствору для лиофилизации, обладающему физической и химической стабильностью при комнатной температуре до 48 ч и при 5°C даже до 9 суток. Таким образом, содержание примесей остается неожиданно низким в этом растворе и, таким образом, чистота раствора является очень высокой. Вследствие высокой стабильности и высокой чистоты раствора при помощи способа по изобретению могут быть приготовлены очень чистые лиофилизированные композиции митомицина С.

Лиофилизация этого раствора неожиданно, по существу, не приводит к увеличению содержания примесей, таким образом, что даже полученная лиофилизированная композиция обладает высокой чистотой. Композиция также неожиданно демонстрирует очень высокую стабильность, и она имеет высокое содержание активного ингредиента и лишь небольшие количества нежелательных продуктов деградации даже после хранения в течение нескольких месяцев.

Также полученная при помощи способа по изобретению композиция, далее названная "лиофилизатом", обладает неожиданно высокой растворимостью в обычных растворителях, используемых для растворения, и позволяет получить готовые к применению растворы, содержащие митомицин С в концентрации более 1 мг/мл. Таким образом, при использовании описанной композиции могут быть получены готовые к применению растворы с особенно высокой концентрацией активного ингредиента.

В предпочтительном воплощении используемая смесь трет-бутанола и воды содержит от 88 до 92 мас.% трет-бутанола.

Раствор для лиофилизации, используемый согласно изобретению, обычно содержит митомицин С в концентрации от 0,1 до 500 мг/г, в частности от 0,5 до 10,0 мг/г, предпочтительно от 0,8 до 6,0 мг/г и в частности предпочтительно от 1,0 до 4,0 мг/г.

Предпочтительно, чтобы раствор также содержал по меньшей мере одно вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из мочевины, полиэтиленгликоля и маннита. При помощи этих вспомогательных веществ могут быть получены лиофилизаты, которые обладают, в частности, высокой растворимостью в растворителях, используемых для растворения. Применение этих вспомогательных веществ, инертных для активного вещества, приводит к получению лиофилизата, который вследствие своих особых свойств защищает активный ингредиент от дестабилизирующего влияния и, таким образом, защищает активный ингредиент в своей чистой форме.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению раствор содержит мочевины в концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

Полиэтиленгликоль, в частности, обладает средней молекулярной массой (среднечисловой) от 1000 до 8000 и предпочтительно от 2000 до 8000. В частности, предпочтительно в качестве полиэтиленгликоля используют ПЭГ 4000, имеющий среднюю молекулярную массу (среднечисловую) приблизительно 4000.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению раствор содержит полиэтиленгликоль в концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению раствор содержит маннит в концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г. Раствор дополнительно также может содержать другие обычные вспомогательные вещества, такие как другие сахарные спирты, такие как изомальт, лактит, сорбит, лактит, сорбит, ксилит, трент, эритрит или арабит, сахар, например сахарозу, глюкозу, фруктозу, мальтозу, рамнозу, лактозу или трегалозу, аминокислоты, такие как L-фенилаланин, L-триптофан, L-пролин, L-гистидин, L-глицин или L-аргинин, полимеры, например, поливинилпирролидоны, поливинилацетаты, производные крахмала, такие как циклодекстрины, декстроза, амилопектины, амилозы, полисахариды, такие как альгинаты, пектины, целлюлозы, агенты для корректирования изотоничности, такие как хлорид натрия, хлорид кальция, ацетат натрия, натрия фосфат двузамещенный дигидрат, и/или агенты для корректирования pH, например, содержащие трометамин, обычно в концентрациях от 1 до 200, особенно от 5 до 100 и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

Лиофилизацию раствора для лиофилизации обычно осуществляют с использованием способов и аппаратов для лиофилизации, обычно используемых для фармацевтических задач. Как правило, раствором заполняют подходящий сосуд, и сосуд помещают в обычный аппарат для лиофилизации с охлаж-

даемыми и нагреваемыми полками, на которых раствор может быть доведен до различных температур в процессе лиофилизации. Для сушки раствор обычно замораживают и подвергают пониженному атмосферному давлению. Как результат, происходит сублимация растворителя из замороженного раствора в высокой степени, который, например, осаждается в соответствующих более прохладных зонах лиофильной сушилки, предназначенных для этого. Далее, как правило, следует вторая сушка при более высоких температурах. После завершения лиофилизации, как правило, полученный лиофилизат доводят до комнатной температуры и производят закупоривание используемого сосуда в стерильных условиях. Подходящая программа для лиофилизации может включать загрузку в сосуд при комнатной температуре, замораживание при от -50 до -35°C при нормальном давлении с последующим понижением атмосферного давления и последующим увеличением температуры от 25 до 95°C для проведения сушки.

Лиофилизованная композиция, полученная при помощи способа в соответствии с изобретением, очевидно также обладает особенной и предпочтительной структурой, поскольку достаточно только очень короткого периода, составляющего менее 60 с, в частности менее 30 с и предпочтительно от 4 до 20 с для полного растворения с получением раствора, готового к применению. Это представляет собой важное преимущество, поскольку практикующий врач может готовить свежие рабочие растворы непосредственно перед предполагаемым введением пациенту, без необходимости длительного ожидания для полного растворения. Аналогично, указанное короткое время растворения уменьшает риск вызвать нежелательные реакции деградации активного ингредиента.

Для растворения композиции обычно используют изотонический физиологический раствор или воду для инъекций. Также возможны другие фармацевтически приемлемые растворы, которые можно использовать для растворения, такие как лактатные растворы Рингера или фосфатный буфер.

Вследствие предпочтительных описанных свойств изобретение также относится к лиофилизованной фармацевтической композиции, содержащей митоминин С, причем композиция получена при помощи способа по изобретению.

Композиция по настоящему изобретению предпочтительно содержит по меньшей мере одно вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из мочевины, полиэтиленгликоля и маннита. Такая композиция требуется для растворения меньших количеств растворяемого лекарственного средства и, таким образом, при помощи нее получают готовый для применения раствор с особенно высокой концентрацией митоминина С.

Композиция содержит мочевины в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и, в частности, предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

Композиция содержит полиэтиленгликоль в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и, в частности, предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

Композиция включает маннит обычно в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и, в частности, предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

Композиция по изобретению содержит примеси D1, D2 и альбомитоминин С в общем количестве, в частности, менее 2,0%, предпочтительно менее 1,5%, в частности, предпочтительно менее 1,0%, более предпочтительно менее 0,8 % и наиболее предпочтительно менее 0,6%, где количество этих примесей определяют в соответствии со способом оценки примесей в соответствии с Ph Eur 8.0 Mitomycin monograph 01/2008: 1655. На этот способ определения ссылаются в примерах как на способ 4.

Вследствие указанных выше предпочтительных свойств изобретение также относится к раствору для лиофилизации, содержащему митоминин С, который содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола.

Указанные в приведенном выше описании способа предпочтительные воплощения раскрытого раствора также предпочтительны для раствора по изобретению.

Раствор по изобретению характеризуется как уже описанный, в частности, тем фактом, что активный ингредиент в нем является очень стабильным и практически не образует примесей. Изобретение более подробно раскрывается ниже со ссылкой на примеры.

Примеры

Пример 1. Растворимость и стабильность митоминина С в различных растворителях.

Растворимость и стабильность митоминина С исследовали в различных растворителях и смесях растворителей, представленных в табл. 1.

Таблица 1

Используемые растворители/смеси

№		Соразтворители, масс. %	Вода масс. %	Концентрация митоминина С [мг/г]	Концентрация маннита [мг/г]
1	Вода	-	100	2,0	4,0
2	трет-Бутанол	32,6	67,4	2,1	4,1
3	Этанол	16,4	83,6	2,2	4,4
4	Изопропанол	16,2	83,8	2,2	4,3
5	Ацетон	7,1	92,9	2,0	4,1

Для этого с использованием каждой из указанных смесей готовили растворы, содержащие от 2,0 до 2,2 мг/г митомицина С и от 4,0 до 4,4 мг/г маннита.

После перемешивания при комнатной температуре в течение 1,5 ч без света полученные смеси оценивали на наличие частиц при облучении линейно-поляризованным светом. Результат визуального наблюдения представлен в табл. 2.

Таблица 2

Визуальное наблюдение		
№	Растворитель/Смесь, масс. %	Описание смеси
1	Вода 100%	Темно-синяя суспензия, не полное растворение
2	<i>трет</i> -Бутанол 32,6%	Темно-синий прозрачный раствор, полное растворение
3	Этанол 16,4%	Темно-синий прозрачный раствор, полное растворение
4	Изопропанол 16,2%	Темно-синий прозрачный раствор, полное растворение
5	Ацетон 7,1%	Темно-синий прозрачный раствор, полное растворение

Затем определяли содержание митомицина С и примесей в получающихся в результате смесей после 24 ч хранения при комнатной температуре. Соответствующие результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Содержание митомицина С и примесей после 24 ч хранения при комнатной температуре

№	Смесь растворителей, масс. %	Содержание митомицина С, [%]*	Общее содержание примесей (D1, D2 и альбомитомицина С), [%]**
2	<i>трет</i> -Бутанол 32,6%	98,04	1,96
3	Этанол 16,4%	94,74	5,26
4	Изопропанол 16,2%	95,69	4,30
5	Ацетон 7,1%	93,99	6,01

* - определено при помощи способа 1 (см. табл. 5);

** - определено при помощи способа 2 (см. табл. 5).

Результаты, приведенные в табл. 3, демонстрируют, что митомицин С в используемом для лиофилизации растворе по изобретению в смеси трет-бутанола и воды обладает особенно высокой стабильностью.

Далее, смеси, полученные после 24 ч хранения без света при (а) комнатной температуре и (б) при 2-8°C, вновь проверяли при облучении линейно-поляризованным светом на наличие видимых частиц. Полученные результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Визуальный осмотр после 24 ч хранения			
№	Растворитель/Смесь растворителей, масс. %	Хранение при комнатной температуре	Хранение при 2-8°C
1	Вода 100%	Темно-синяя суспензия; диспергированные частицы	Темно-синяя суспензия
2	<i>трет</i> -Бутанол 32,6%	Темно-синий прозрачный раствор	Темно-синий прозрачный раствор
3	Этанол 16,4%	Темно-синий прозрачный раствор; игольчатые частицы	Темно-синий прозрачный раствор; игольчатые частицы
4	Изопропанол 16,1%	Темно-синий прозрачный раствор;	Темно-синий прозрачный раствор; игольчатые частицы
5	Ацетон 7,1%	Темно-синий прозрачный раствор; игольчатые частицы	Темно-синий прозрачный раствор; игольчатые частицы

С используемыми по изобретению смесями растворителей получались существенно более стабильные растворы, чем с водой. С использованием смеси 32,6 мас.% трет-бутанола и 67,4 мас.% воды полу-

чающийся раствор, как оказалось, был наиболее стабилен, поскольку даже через 24 ч никакие частицы не обнаруживались визуально ни при комнатной температуре, ни при 2-8°C. Кроме того, содержание митомицина С было выше всего в смеси трет-бутанола и воды после 24 ч хранения при комнатной температуре и содержание примесей было меньше всего.

Определение митомицина С и примесей при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Каждый из образцов разводили N,N-диметилацетамидом до 0,5 мг митомицина С/мл. Референсный раствор содержал 0,5 мг митомицина С/мл в N,N-диметилацетамиде.

Таблица 5
Условия жидкостной хроматографии высокого давления

	Способ 1	Способ 2
Обнаружение:	УФ при 365 нм	УФ при 254 нм
Подвижная фаза:	Буфер/Метанол 62,5/37,5, об./об. Буфер: 0,025% Уксусная кислота в 0,02 М ацетате аммония	Буфер/Метанол 75/25, об./об. Буфер: 0,025% Уксусная кислота в 0,02 М ацетате аммония
Скорость потока:	1,4 мл/мин	2,6 мл/мин

Колонка: YMC-Pack phenyl 4,6×300 мм, 10 мкм.

Температура: 25°C.

Инъектируемый объем: 10 мкл.

Пример 2. Растворимость и стабильность митомицина С в диметилсульфоксиде и смеси диметилсульфоксида и N,N-диметилацетамида.

Исследовали растворимость и стабильность митомицина С в растворителях, представленных в табл. 6, а именно в диметилсульфоксиде (ДМСО) и смеси диметилсульфоксида (ДМСО) и N,N-диметилацетамида (ДМАА).

Таблица 6
ДМСО или ДМСО/ДМАА в качестве растворителя/смеси

№	Диметилсульфоксид масс. %	N,N-Диметилацетамид масс. %
6	5,7	94,3
7	100	

Для этого готовили растворы с использованием каждого из этих растворителей, при этом № 6 (ДМСО/ДМАА) содержал 0,53 мг/г митомицина С и 8,0 мг/г мочевины, и № 7 (ДМСО) содержал 1,82 мг/г митомицина С и 27,3 мг/г мочевины. Растворы хранили при комнатной температуре и без света в течение периода до 71,5 ч.

Таблица 7а
Содержание митомицина в смеси ДМСО/ДМАА

ДМСО/ДМАА, масс. %	Содержание митомицина [%]					
	t=0	t=6,5 ч	t=14,5 ч	t=21 ч	t=42 ч	t=71,5 ч
5,7/94,3 ¹	100	99,93	99,62	98,84	99,11	98,58

¹ - содержание определяли в соответствии со способом 3.

Таблица 7б
Чистота митомицина в ДМСО

ДМСО, масс. %	Чистота митомицина [%]					
	t=0	t=4 ч	t=6,5 ч	t=13 ч	t=20 ч	t=26,5 ч
100 ²	100	99,31	99,32	99,19	99,36	99,32

² - чистоту определяли при помощи способа 4.

Чистоту определяют как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ (жидкостной хроматографии высокого давления).

Оказалось, что в обоих растворителях митомицин С является очень стабильным. Использование только одного ДМСО привело в результате, в частности, к небольшой потере относительно исходного содержания митомицина С со 100 до 99,32% в течение периода, составляющего 26,5 ч.

Количество митомицина С и, таким образом, стабильность получающихся в результате растворов проверяли при помощи способов 3 и 4. Способ 3 соответствует способу определения содержания в соответствии с монографией Ph Eur 8.0 Mitomycin monograph 01/2008: 1655. Способ 4 соответствует способу определения примесей в соответствии с Ph Eur 8.0 Mitomycin monograph 01/2008: 1655.

Пример 3. Растворимость и стабильность митомицина С в различных смесях трет-бутанола/воды.

Исследовали растворимость и стабильность митомицина С в различных указанных в табл. 8 смесях трет-бутанола и воды.

С этой целью с использованием смесей готовили каждый из этих растворов, в которых concentra-

ция митомицина С составляла 2,1 мг/г для смеси № 8, 2,2 мг/г для смеси № 9 и 2,4 мг/г для смеси № 10.

Эти растворы хранили в течение 16 ч защищенными от света (а) при комнатной температуре и (б) при 2-8°C, и затем вновь анализировали на наличие видимых частиц путем облучения линейно-поляризованным светом. Полученные результаты также представлены в табл. 8.

Таблица 8

Визуальный осмотр после хранения в течение 16 ч

№	Смесь растворителей, масс. %	Хранение при комнатной температуре (а)	Хранение при 2-8°C (б)
8	<i>трет</i> -Бутанол 32,6%	Темно-синий прозрачный раствор	Темно-синий прозрачный раствор
9	<i>трет</i> -Бутанол 51,7%	Темно-синий прозрачный раствор	Темно-синий прозрачный раствор
10	<i>трет</i> -Бутанол 72,9%	Темно-синий прозрачный раствор	Темно-синий прозрачный раствор

Все смеси трет-бутанола и воды были способны растворять указанное количество митомицина С, и в полученных растворах визуально не обнаружили никакие частицы даже после 16 ч хранения.

Для определения при помощи ВЭЖХ стабильности митомицина С в смесях трет-бутанол/вода к смеси 20 мас.% трет-бутанола и 80 мас.% воды (№ 11) добавляли митомицин С в таком количестве, чтобы получить раствор, имеющий концентрацию 10 мг/г митомицина С. Затем к смеси 32,6 мас.% трет-бутанола и 67,4 мас.% воды (№ 12) добавляли митомицин С в таком количестве, чтобы получить раствор, имеющий концентрацию 2,1 мг/г митомицина С. Затем к смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды (№ 13) добавляли митомицин С в таком количестве, чтобы получить раствор, имеющий концентрацию 5 мг/г митомицина С. Затем осуществляли растворение митомицина в чистом трет-бутаноле (100 мас.%) (№ 14) и для сравнения растворение в воде (№ 15). При попытке с чистым трет-бутанолом последний сначала плавил путем нагревания до приблизительно 30°C и затем митомицин С растворяли в расплаве.

Растворы затем хранили в течение 24 ч при комнатной температуре в коричневых стеклянных сосудах. Соответствующие результаты приведены в табл. 9.

Таблица 9

Стабильность митомицина С в смесях трет-бутанол/вода

№	Смесь растворителей, масс. %	Митомицин [мг/г]	Чистота митомицина* t = 0 ч [%]	Чистота митомицина* t = 6 ч [%]	Чистота митомицина* t = 24 ч [%]
11	<i>трет</i> -Бутанол 20%	10	99,51	97,01	93,55
12	<i>трет</i> -Бутанол 32,6%	2,1	100,0	99,4	98,7
13	<i>трет</i> -Бутанол 89%	5	99,56	98,95	98,47
14	<i>трет</i> -Бутанол 100%	0,38	100,0	100,0	100,0
15	Вода (Контроль)	0,48	96,8	92,1	89,9

*- определение при помощи HPLC в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

В растворах, содержащих трет-бутанол, митомицин С имел высокую стабильность, тогда как применение смеси № 12 и № 13 приводило в результате в момент t=0 к особенно незначительной потере исходной чистоты митомицина С со 100,0 до 98,7% и с 99,56 до 98,47%. Особенно высокая чистота 100,0 мас.% после 24 ч могла быть достигнута в 100 мас.% трет-бутанола, тем не менее, растворимость митомицина С в чистом трет-бутаноле ниже. Наоборот, чистота митомицина С в воде через 24 ч существенно ухудшалась (в момент t=0 с 96,8 до 89,9%).

Пример 4. Совместимость других вспомогательных веществ со смесями трет-бутанол/вода.

Несколько растворов готовили путем растворения 20 мг митомицина С в 6 г смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. К этим растворам добавляли вспомогательные вещества: мочевины, ПЭГ 4000 или трометамол, с получением соответствующей концентрации 50 мг/г в каждом случае. Раствор с трометамолом также доводили при помощи уксусной кислоты до величины pH 7,4.

В момент t=0 и после 6 ч и 24 ч при комнатной температуре растворы анализировали в отношении содержания в них митомицина С и сравнивали с раствором, который не содержал дополнительное вспомогательное вещество. Определение содержания осуществляли в соответствии со способом 2, и результаты представлены в табл. 10.

Таблица 10

Стабильность растворов с мочевиной, полиэтиленгликолем и трометамолом

Вспомогательное вещество	Чистота*	Чистота*	Чистота*
	митомидин С t=0	митомидин С t=6 ч	митомидин С t=24 ч
Мочевина	99,69	99,76	99,14
ПЭГ 4000	100	99,58	99,50
Трометамол	99,56	99,44	99,50
Без вспомогательного вещества	99,61	99,63	99,48

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомидина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Пример 5. Стабильность митомидина С в содержащих мочевины смесях трет-бутанол/вода.

В смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды мочевины растворяли в таком количестве, чтобы получить концентрацию 5 мас.%. Затем митомидин С добавляли в таком количестве, чтобы получить концентрацию 3,33 мг/г, и раствор перемешивали в течение одного часа. Раствором заполняли коричневые сосуды и хранили в течение 9 суток при комнатной температуре (КТ) без светозащиты, при комнатной температуре (КТ) в темноте и при 5°C в темноте. В различные моменты времени осуществляли определение чистоты в соответствии со способом 2. Результаты представлены в табл. 11.

Таблица 11

Стабильность растворов митомидина с мочевиной

Хранение	Чистота митомидина* [%]					
	t=0	t=6 ч	t=24 ч	t=48 ч	t=72 ч	t=9 суток
КТ; без светозащиты	99,32	98,83	97,60	96,77	96,14	95,78
КТ; со светозащитой	99,33	98,83	97,80	97,04	96,74	96,35
5°C; со светозащитой	99,23	99,18	99,20	98,86	98,80	98,21

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомидина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Даже после девяти суток хранения раствор при всех условиях оказался неожиданно стабильным, и чистота раствора оказалась неожиданно высокой.

Пример 6. Лиофилизация растворов митомидина С в различных смесях трет-бутанол/вода.

Во-первых, готовили растворы митомидина С в смеси трет-бутанола и воды с 16,1, 32,6 и 72,9 мас.% трет-бутанола. Эти растворы содержали 2,1 мг/г митомидина С и 4,1 мг/г маннита для раствора со смесью 16,1 мас.% трет-бутанола, 2,2 мг/г митомидина С и 4,3 мг/г маннита для раствора со смесью 32,6 мас.% трет-бутанола, 2,4 мг/г митомидина С и 4,8 мг/г маннита для раствора со смесью 72,9 мас.% трет-бутанола.

Все растворы были прозрачными и достаточно стабильными. Также для сравнения готовили раствор митомидина С в воде, содержащий 7 мг/г маннита и 0,7 мг/г митомидина С ввиду плохой растворимости в воде. При помощи обычной лиофилизации путем (1) замораживания раствора, (2) применения вакуума, (3) первичной и (4) вторичной сушки получали лиофилизаты. Их разводили водой, и получающиеся в результате разведенные растворы анализировали в отношении содержания в них митомидина С и примесей, как описано в примере 1. Результаты представлены в табл. 12.

Таблица 12

Содержание митомидина С и примесей после лиофилизации и растворения

Масса трет-бутанола в смеси, масс. %	Содержание** митомидина С, [%]	Общее содержание*** примесей [%]; D1; D2; альбомитомидин С
трет-бутанол 0%	98,36	1,64; 0,40; 0,48; 0,76
трет-бутанол 16,1%	99,55	0,46; н.о.*; 0,15; 0,31
трет-бутанол 32,6%	99,81	0,20; н.о.*; 0,10; 0,10
трет-бутанол 72,9%	100,00	н.о.*; н.о.*; н.о.*; н.о.*

*н.о. - не обнаруживается, т.е. ниже предела обнаружения;

** - определение при помощи HPLC в соответствии со способом 1;

*** - определение при помощи HPLC в соответствии со способом 2.

Все используемые в данном изобретении смеси трет-бутанола и воды приводили в результате после лиофилизации и растворения к растворам с очень высоким содержанием митомидина С и очень низким содержанием примесей (D1, D2 и альбомитомидин С).

Наоборот, лиофилизация с использованием воды после растворения приводила в результате к получению раствора со значительно меньшим содержанием митомидина С и весьма значительным количеством примесей.

Пример 7. Стабильность митомицина С в смеси трет-бутанол-вода (89/11) с 20 мг/г мочевины.

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. Растворы со­держали наряду с 1,33 мг/г митомицина С также соответственно 20 мг/г мочевины. В момент $t=0$ и после 5, 22 и 27 ч при комнатной температуре (КТ) в темноте в холодильнике растворы исследовали на чистоту в соответствии со способом 2. Результаты представлены в табл. 13.

Таблица 13
Стабильность митомицина С в растворах,
содержащих 20 мг/г мочевины

Условия	Чистота митомицина С* [%]		
	t=5 ч	t=22 ч	t=27 ч
КТ; без света	99,7	99,2	98,9
5°C; без света	99,8	99,8	99,7

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

При хранении при комнатной температуре в течение даже более суток чистота раствора была не­ожиданно высокой, что отражало неожиданно высокую стабильность активного ингредиента в раствори­теле.

Пример 8. Стабильность митомицина С в смеси трет-бутанол-вода (89/11) с 25 мг/г мочевины.

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. Растворы со­держали наряду с 1,67 мг/г митомицина С также соответственно 25 мг/г мочевины. В момент $t=0$ и после 5, 22 и 27 ч при комнатной температуре (КТ) в темноте в холодильнике растворы исследовали на чистоту в соответствии со способом 2.

Таблица 14
Стабильность митомицина С в растворах,
содержащих 25 мг/г мочевины

Условия	Чистота митомицина С* [%]		
	t=5 ч	t=22 ч	t=27 ч
КТ; без света	99,6	99,1	98,6
5°C; без света	99,8	99,5	99,5

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

При хранении при комнатной температуре в течение даже более суток чистота раствора была не­ожиданно высокой, что отражало неожиданно высокую стабильность активного ингредиента в раствори­теле.

Пример 9. Лиофилизация растворов митомицина С, содержащих мочевины или полиэтиленгликоль (50 мг/г).

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. Растворы со­держали дополнительно к 3,33 мг/г митомицина С также 50 мг/г мочевины или ПЭГ 4000. 6 г каждого из этих растворов заполняли в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Осадки лиофи­лизатов с мочевиной и ПЭГ 4000 были твердыми и имели надлежащий вид.

Лиофилизаты непосредственно после изготовления ($t=0$) и после хранения в течение 1 месяц ($t=1$ месяц) анализировали при 40°C в отношении чистоты митомицина С. Результаты представлены в табл. 15.

Таблица 15
Стабильность лиофилизатов с мочевиной и полиэтиленгликолем

t = 0;		
Вспомогательное вещество	Чистота митомицина*, [%]	Растворение
Мочевина	99,65	« 30 с
ПЭГ 4000	99,34	« 30 с
t = 1 месяц при 40°C;		
Вспомогательное вещество	Чистота митомицина*, [%]	Растворение
Мочевина	99,89	« 30 с
ПЭГ 4000	96,19	« 30 с

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Полученные лиофилизаты имели высокую чистоту митомицина С, отражающую их превосходную стабильность даже после хранения при повышенной температуре 40°C.

Кроме того, лиофилизаты менее чем за 30 с могли быть полностью разведены изотоническим физиологическим раствором.

Пример 10. Лيوфилизация растворов митомицина С, содержащих мочевины (20 мг/г).

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. Растворы содержали дополнительно к 1,33 мг/г митомицина С также соответственно 20 мг/г мочевины. В каждом случае 1,5 г этого раствора диспенсировали в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Осадки лиофилизатов были твердыми и имели надлежащий вид.

Леофилизаты непосредственно после приготовления ($t=0$) анализировали в отношении чистоты митомицина С. Кроме того, определяли время растворения. Растворение осуществляли изотоническим физиологическим раствором до конечной концентрации 1 мг/г митомицина С. Результаты представлены в табл. 16.

Таблица 16

Характеристики лиофилизатов, содержащих мочевины

t = 0;		
Вспомогательное вещество	Чистота митомицина* [%]	Растворение
Мочевина	99,5	« 30 с

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Полученные лиофилизаты имели высокую чистоту митомицина С, отражающую очень хорошую стабильность активного ингредиента в способе. Кроме того, лиофилизаты менее чем за 30 с могли быть полностью разведены изотоническим физиологическим раствором.

Пример 11. Леофилизация растворов митомицина С, содержащих мочевины (25 мг/г).

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола и 11 мас.% воды. Растворы содержали дополнительно к 1,67 мг/г митомицина С также соответственно 25 мг/г мочевины. В каждом случае 1,2 г этого раствора диспенсировали в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Осадки лиофилизатов были твердыми и имели надлежащий вид.

Таблица 17

Леофилизаты, содержащие мочевины

t = 0		
Вспомогательное вещество	Чистота митомицина* [%]	Растворение
Мочевина	99,5	« 30 с

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Полученные лиофилизаты имели высокую чистоту митомицина С, отражающую очень хорошую стабильность активного ингредиента в способе. Кроме того, лиофилизаты менее чем за 30 с могли быть полностью разведены изотоническим физиологическим раствором.

Пример 12. Митомицин С в смеси трет-бутанол/вода (95/5) с маннитом (45 мг/г).

Растворы митомицина С готовили в смеси 95 мас.% трет-бутанола (ТВА) и 5 мас.% воды. Растворы содержали дополнительно к 5 мг/г митомицина С также соответственно 45 мг/г маннита. В каждом случае 4,0 г этого раствора диспенсировали в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Осадки лиофилизатов были твердыми и имели надлежащий вид.

Таблица 18

Леофилизаты, содержащие маннит

t = 0		
Вспомогательное вещество	Чистота митомицина* [%]	Растворение
Мочевина	99,6	« 30 с

* - определение при помощи ВЭЖХ в соответствии со способом 2; чистоту определяли как площадь пиков митомицина относительно общей площади всех пиков на хроматограмме ВЭЖХ.

Полученные лиофилизаты имели высокую чистоту митомицина С, отражающую очень хорошую стабильность активного ингредиента в способе.

Кроме того, лиофилизаты менее чем за 30 с могли быть полностью разведены изотоническим физиологическим раствором.

Пример 13. Стабильность леофилизированного митомицина.

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола (ТВС) и 11 мас.% воды. Растворы содержали дополнительно к 3,33 мг/г митомицина С также соответственно 50 мг/г мочевины. Каждый из 6 г [соответствующие 20 мг митомицина С] или 12 г [соответствующие 40 мг митомицина С] этих растворов заполняли в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Леофилизаты, приго-

товленные в течение различных промежутков времени $t=0$, $t=3$ месяца, $t=6$ месяцев, исследовали при 40°C и 75% относительной влажности (ОВ).

Определение митомицина С осуществляли в соответствии со способом 3, и содержание примесей в соответствии со способом 4. Растворение осуществляли при помощи 20 или 40 мл изотонического физиологического раствора до конечной концентрации 1 мг/мл.

Таблица 19
Стабильность при 40°C и 75% ОВ [20 мг митомицина С]

	$t=0$	$t=3$ месяца	$t=6$ месяцев
Время растворения	7 с	12 с	17 с
Содержание митомицина С*	97,8%	98,2%	98,3%
Примесь альбомитомицина С**	0,29%	0,20%	0,26%
Общее содержание примесей**	0,29%	0,55%	0,61%

* - определение при помощи способа 3;

** - определение при помощи способа 4.

Таблица 20
Стабильность при 40°C и 75% ОВ [40 мг митомицина С].

	$t=0$	$t=3$ месяца	$t=6$ месяцев
Время растворения	6 с	20 с	18 с
Содержание митомицина С*	97,2%	96,6%	96,7%
Примесь альбомитомицина С**	0,32%	0,22%	0,21%
Общее содержание примесей**	0,32	0,55	0,58

* - определение при помощи способа 3;

** - определение при помощи способа 4.

Даже после 6 месяцев хранения при повышенной температуре 40°C и повышенной влажности 75% ОВ (относительной влажности), полученные лиофилизаты содержат только очень малое количество примесей. Кроме того, лиофилизаты менее чем за 30 с могли быть полностью разведены изотоническим физиологическим раствором.

Пример 14. Повышенная конечная концентрация после растворения.

Растворы митомицина С готовили в смеси 89 мас.% трет-бутанола (ТВА) и 11 мас.% воды. Растворы содержали дополнительно к 3,33 мг/г митомицина С также соответственно 50 мг/г мочевины. 6 г [соответствующие 20 мг митомицина С] этих растворов диспенсировали в небольшие флаконы и лиофилизировали обычным образом. Лиофилизаты разводили 20 или 10 мл воды для инъекций.

Конечная концентрация митомицина С	Содержание митомицина С [%]	Описание растворов после растворения
1 мг/мл	100,6	Прозрачный, не содержит видимых частиц
2 мг/мл	100,6	Прозрачный, не содержит видимых частиц

* - определение при помощи способа 3.

Растворы, приготовленные путем растворения в воде для инъекций, содержат высокие уровни митомицина С. Растворы были прозрачными и не содержали видимых частиц.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения лиофилизированной фармацевтической композиции, содержащей митомицин С, в котором лиофилизируют раствор митомицина С, причем раствор содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что смесь трет-бутанола и воды содержит от 88 до 92 мас.% и предпочтительно приблизительно 89 мас.% трет-бутанола.

3. Способ по п.1 или 2, отличающийся тем, что раствор содержит митомицин С в концентрации от 0,1 до 500 мг/г, в частности от 0,5 до 10,0 мг/г, предпочтительно от 0,8 до 6,0 мг/г и более предпочтительно от 1,0 до 4,0 мг/г.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что раствор дополнительно содержит по меньшей мере одно вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из мочевины, полиэтиленгликоля и маннита.

5. Способ по п.4, отличающийся тем, что раствор содержит мочевины в концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

6. Способ по п.4 или 5, отличающийся тем, что полиэтиленгликоль имеет среднюю молекулярную массу (среднечисловую) от 1000 до 8000 и предпочтительно от 2000 до 8000.

7. Способ по любому из пп.4-6, отличающийся тем, что раствор содержит полиэтиленгликоль в

концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

8. Способ по любому из пп.4-7, отличающийся тем, что раствор содержит маннит в концентрации от 1 до 200 мг/г, в частности от 5 до 100 мг/г и предпочтительно от 10 до 60 мг/г.

9. Лиофилизованная фармацевтическая композиция, содержащая митомицин С, полученная способом по любому из пп.1-8.

10. Композиция по п.9, отличающаяся тем, что дополнительно содержит по меньшей мере одно вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из мочевины, полиэтиленгликоля и маннита.

11. Композиция по п.10, отличающаяся тем, что содержит мочевины в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и более предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

12. Композиция по п.10 или 11, отличающаяся тем, что содержит полиэтиленгликоль в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и более предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

13. Композиция по любому из пп.10-12, отличающаяся тем, что содержит маннит в концентрации от 0,2 до 1, в частности от 0,5 до 0,99, предпочтительно от 0,8 до 0,95 и более предпочтительно от 0,93 до 0,94 г на грамм композиции.

14. Раствор, содержащий митомицин С, для лиофилизации, который содержит смесь трет-бутанола и воды, где смесь содержит от 84 до 95 мас.% трет-бутанола.

