(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 039525 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.02.07

(21) Номер заявки
201892157

(22) Дата подачи заявки
2017.04.05

(51) Int. Cl. ***A61K 31/28*** (2006.01)
C07F 15/00 (2006.01)

(54) ФОСФАПЛАТИНОВЫЕ ЖИДКИЕ СОСТАВЫ

(31) **62/319,047**
(32) **2016.04.06**
(33) **US**
(43) **2019.04.30**
(86) **PCT/US2017/026139**
(87) **WO 2017/176880 2017.10.12**

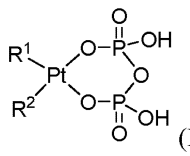
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФОСПЛАТИН ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Люк Уэйн Д., Эймс Тайлер (US)

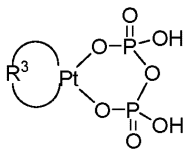
(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A1-2011153365
US-A1-20140288321
US-A1-20130165680
CA-2818933

(57) Предложен стерильный жидкий фармацевтический состав для лечения рака, содержащий фосфаплатиновое соединение формулы (I) или (II) и водный фосфатный или бикарбонатный/карбонатный буферный раствор, имеющий pH 7 или выше. Также предложен способ получения стерильного жидкого фармацевтического состава фосфаплатинового соединения и способ лечения рака с использованием указанного стерильного жидкого фармацевтического состава.



(I),



(II).

039525 B1

039525 B1

В данной заявке испрашивается приоритет согласно 35 U.S.C. § 119(e) по предварительной заявке на патент США № 62/319047, поданной 6 апреля 2016 г., которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

Область техники

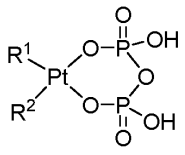
Данное изобретение относится к фармацевтическим композициям фосфаплатиновых соединений, применимых в качестве противораковых агентов, в частности к стабильным жидким составам, готовым к применению при лечении различных онкологических заболеваний.

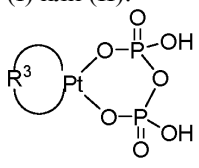
Уровень техники

Мономерные фосфаплатиновые комплексы продемонстрировали большой потенциал для лечения различных заболеваний, включая широкий спектр раковых заболеваний. См., например, WO 2009/021082, WO 2011/153365 и WO 2012/096722. Как и многие терапевтически применимые соединения платины, фосфаплатиновые комплексы, как правило, вводят парентерально, например, внутривенными ("в/в" или "в.в.") инъекциями. Препараты для парентерального введения, как правило, готовят в виде жидкостей или в виде лиофилизированных твердых веществ, которые перед введением требуют разведения со стерильным носителем. Жидкие составы очень предпочтительны по сравнению с лиофилизированными составами, потому что a) они более экономичны и более просты в производстве, и b) их намного легче вводить, поскольку они не требуют разведения со стерильным носителем перед применением. Показатель pH препаратов жидких лекарственных составов для в/в введения, как правило, находится в диапазоне pH вблизи физиологического диапазона pH крови (7,3-7,4), чтобы избежать клинических проблем, связанных с введением лекарственного состава, pH которого значительно отличается от pH крови. Жидкие составы, которые являются стабильными и легко хранятся при температуре окружающей среды, очень предпочтительны по отношению к жидким или лиофилизированным составам, которые должны храниться в охлажденном или замороженном состоянии. Из-за возможного распада мономерных фосфаплатиновых комплексов в водных растворах, особенно в кислых условиях, приготовление стабильных готовых к применению жидких составов этих соединений остается сложной задачей.

В одном аспекте, в данном изобретении предложены жидкие фармацевтические композиции, содержащие фосфаплатиновое соединение и водный буферный раствор, имеющий pH около 7 или выше, с предпочтительным диапазоном pH 7-9. Буферный раствор представляет собой водный раствор, содержащий фосфатную соль, карбонатную/бикарбонатную соль или их комбинацию.

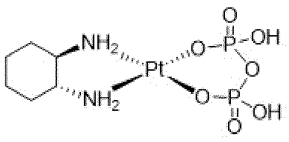
В некоторых вариантах осуществления изобретения фосфаплатиновое соединение представляет собой комплекс пирофосфата платины (II), имеющий формулу (I) или (II):

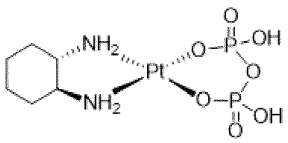

(I),

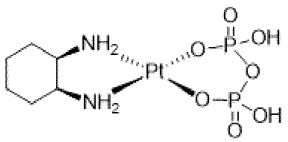

(II),

или его соль, где R^1 и R^2, каждый независимо, выбран из: NH_3, замещенных или незамещенных алифатических аминов и замещенных или незамещенных ароматических аминов; и где R^3 выбран из замещенных или незамещенных алифатических или ароматических 1,2-диаминов.

В некоторых более предпочтительных вариантах осуществления изобретения фосфаплатиновое соединение выбрано из группы, состоящей из: транс-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфато)платины(II) ("транс-пиро-DACH-2"), либо из двух энантиомеров (R,R)-пиро-DACH-2 и (S,S)-пиро-DACH-2 и цис-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфато)платины(II) ("цис-пиро-DACH-2").


(R,R)-пиро-DACH-2 ,


(S,S)-пиро-DACH-2 ,


cis-пиро-DACH-2

Наиболее предпочтительные варианты осуществления изобретения составов демонстрируют потенциал для многолетней стабильности при температуре окружающей среды. Указанные составы образуют стерильный концентрированный раствор (R,R)-пиро-DACH-2, который легко разводится в стандартных в/в физрастворах, применяемых при в/в введении противоопухолевых лекарственных средств, или стерильный раствор с подходящей концентрацией во флаконе, готовый для применения на пациенте.

В другом аспекте, в данном изобретении предложены способы изготовления жидких составов, в частности, готовых к применению составов, из фосфаплатиновых соединений в буферном растворе, как описано в данном документе, при этом указанный способ включает в себя следующие стадии: a) растворение фосфаплатинового соединения в водном буфере, содержащем достаточное количество гидроксидного основания, чтобы pH оставался около 7 или выше; b) необязательно, добавление гидроксидного основания для доведения pH до желаемого диапазона и c) фильтрование раствора с получением жидкого состава.

В другом аспекте, данное изобретение направлено на применение стабильного жидкого состава в соответствии с любым вариантом осуществления изобретения, раскрытым в данном документе, при лечении рака.

Эти и другие аспекты данного изобретения будут лучше поняты в полной мере со ссылкой на следующие ниже графические материалы, подробное описание и формулу изобретения.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 проиллюстрирована активность укупоренных растворов 1 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в различных буферах, хранящихся в камерах для исследования стабильности с контролируемой температурой/уровнем относительной влажности (ОВ) при 25°C/60%ОВ, по данным ВЭЖХ.

На фиг. 2 проиллюстрирована активность укупоренных растворов 1 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в различных буферах, хранящихся в камерах для исследования стабильности с контролируемой температурой/уровнем относительной влажности при 40°C/75%ОВ, по данным ВЭЖХ.

На фиг. 3 проиллюстрирована активность укупоренных растворов 1 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ буфера фосфата калия при различных pH, хранящегося в камерах для исследования стабильности с контролируемой температурой/уровнем относительной влажности при 25°C/60%ОВ, по данным ВЭЖХ.

На фиг. 4 проиллюстрирована активность укупоренных растворов 1 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ буфера фосфата калия при различных pH, хранящегося в камерах для исследования стабильности с контролируемой температурой/уровнем относительной влажности при 40°C/75%ОВ, по данным ВЭЖХ.

Подробное описание изобретения

В одном аспекте, в данном изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая фосфаплатиновое соединение и водный буферный раствор, имеющий pH около 7 или выше.

В одном из вариантов осуществления изобретения по данному аспекту, иногда предпочтительном, указанная фармацевтическая композиция представляет собой готовый к применению жидкий состав, подходящий для парентерального введения.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту, концентрация фосфаплатинового соединения составляет около 20 мг/мл или менее.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация фосфаплатинового соединения находится в интервале между около 1 и около 10 мг/мл.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация фосфаплатинового соединения находится в интервале между около 1 и около 6 мг/мл.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту концентрация фосфаплатинового соединения составляет около 5 мг/мл.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту буфер содержит соль фосфата или бикарбоната/карбоната.

В некоторых вариантах осуществления изобретения буфер содержит родственные фосфатные ионы, т.е. фосфат (PO_4^{3-}), гидрофосфат (HPO_4^{2-}) и/или дигидрофосфат ($H_2PO_4^-$).

В некоторых вариантах осуществления изобретения буфер содержит родственные карбонатные ионы, т.е. бикарбонат (HCO_3^-) и карбонат (CO_3^{2-}).

В некоторых вариантах осуществления изобретения буфер содержит как родственные фосфатные ионы (ионы PO_4^{3-}, HPO_4^{2-} и/или $H_2PO_4^-$), так и родственные карбонатные ионы (т.е. HCO_3^- и CO_3^{2-}).

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация буферной соли находится в интервале между около 1 и около 100 мМ (миллимоль).

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация буферной соли находится в интервале между около 5 и около 50 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация буферной соли составляет около 10 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту pH жидкой фармацевтической композиции находится в диапазоне от около 7,0 до около 9,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту pH жидкой фармацевтической композиции находится в диапазоне от около 7,0 до около 8,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту буфер содержит фосфатную соль натрия, или калия, или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту буфер содержит фосфат калия; концентрация фосфаплатинового соединения составляет 5 мг/мл, а pH находится в диапазоне от около 7,0 до около 8,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация буфера составляет около 10 мМ.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту буфер содержит пирофосфатную соль.

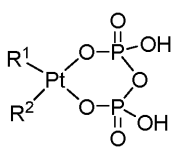
В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту молярное отношение пирофосфатного аниона к фосфаплатиновому соединению составляет по меньшей мере 0,1 к 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту молярное отношение пирофосфатного иона к фосфаплатиновому соединению составляет около 0,2 к 1.

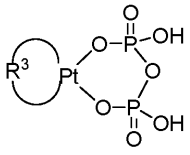
В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту молярное отношение пирофосфатного иона к фосфаплатиновому соединению составляет около 0,4 к 1.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту концентрация фосфаплатинового соединения составляет около 5 мг/мл, концентрация пирофосфата составляет около 5,2 мМ, а pH находится в диапазоне от около 7,0 до около 8,0.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по данному аспекту фосфаплатиновое соединение представляет собой комплекс пирофосфата платины (II), имеющий формулу (I) или (II):



(I)

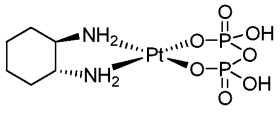


(II),

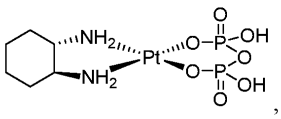
или его соль, где R^1 и R^2 каждый независимо выбран из: NH_3, замещенных или незамещенных алифатических аминов и замещенных или незамещенных ароматических аминов; и где R^3 выбран из замещенных или незамещенных алифатических или ароматических 1,2-диаминов.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R^1 и R^2 в формуле (I) каждый независимо выбран из: NH_3, метиламина, этиламина, пропиламина, изопропиламина, бутиламина, циклогексамина, анилина, пиридина и замещенного пиридина; а R^3 в формуле (II) выбран из этилендиамина и циклогександиамина.

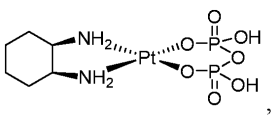
В некоторых более предпочтительных вариантах осуществления изобретения по данному аспекту указанное фосфаплатиновое соединение представляет собой комплекс 1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфато) платины (II), ("пиро-DACH-2"), выбранный из группы, состоящей из:



,



,



,

(R,R)-транс-пиро-DACH-2 (S,S)-транс-пиро-DACH-2 цис-пиро-DACH-2

В одном из предпочтительных вариантов осуществления изобретения по данному аспекту указанное фосфаплатиновое соединение представляет собой комплекс транс-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфато) платины (II), ("транс-пиро-DACH-2").

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения по данному аспекту указанное фосфаплатиновое соединение представляет собой (R,R)-транс-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфат) платины (II), ("(R,R)-транс-пиро-DACH-2").

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения по данному аспекту указанное фосфаплатиновое соединение представляет собой (S,S)-транс-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфат) платины (II), ("(S,S)-транс-пиро-DACH-2"),

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения по данному аспекту указанное фосфаплатиновое соединение представляет собой цис-1,2-циклогександиамин-(дигидропирофосфат) платины (II), ("цис-пиро-DACH-2").

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения предложены жидкие фармацевтические композиции фосфаплатины в соответствии с любыми допустимыми комбинациями вариантов осуществления изобретения, описанных в данном документе.

В другом аспекте, в данном изобретении предложена жидкая фармацевтическая композиция в соответствии с любым вариантом осуществления изобретения, раскрытым в данном документе, или в соответствии с любой их комбинацией для применения при лечении заболевания или расстройства.

В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание или расстройство представляет собой рак.

В некоторых вариантах осуществления изобретения рак включает в себя, но не ограничивается ими, те формы рака, которые выбраны из: гинекологических раковых заболеваний, онкологических заболеваний мочеполовой системы, онкологических заболеваний легких, онкологических заболеваний головы и шеи, онкологических заболеваний кожи, онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта, онкологических заболеваний молочной железы, онкологических заболеваний костей и хондроитиновых онкологических заболеваний, а также гематологических онкологических заболеваний.

В некоторых вариантах осуществления изобретения рак выбран из группы, состоящей из: рака яичников, рака яичек, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака головы и шеи, рака кожи, рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака печени, рака желудка, рака кости, раковой глиобластомы и рака толстой кишки.

В другом аспекте, в данном изобретении предложено применение жидкой фармацевтической композиции в соответствии с любым из вариантов осуществления изобретения, описанных в данном доку-

менте, или в соответствии с любой их комбинацией, для использования в производстве лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства. Заболевание или расстройство включает в себя рак, включая, но не ограничиваясь какими-либо из: гинекологических онкологических заболеваний, урогенитальных онкологических заболеваний, онкологических заболеваний легких, онкологических заболеваний головы и шеи, онкологических заболеваний кожи, онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта, онкологических заболеваний молочной железы, онкологических заболеваний костей и хондроитиновых онкологических заболеваний, а также гематологических онкологических заболеваний. Более конкретные неограничивающие примеры включают в себя рак яичников, рак яичек, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, рак головы и шеи, рак кожи, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак печени, рак желудка, рак кости, раковую глиобластому и рак толстой кишки.

В другом аспекте в данном изобретении предложен способ приготовления жидкой фармацевтической композиции фосфаплатинового соединения в соответствии с любым из вариантов осуществления изобретения, раскрытых в данном документе, или в соответствии с любой их комбинацией, включающий в себя: a) растворение фосфаплатинового соединения в водном буфере, содержащем достаточное количество гидроксидного основания, чтобы pH оставался около 7 или выше; b) необязательно, добавление гидроксидного основания для доведения pH до желаемого диапазона и c) фильтрование раствора с получением жидкого состава.

В одном из вариантов осуществления изобретения по данному аспекту водный буфер представляет собой фосфатный буфер, карбонатный/бикарбонатный буфер или их комбинацию.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту pH жидкого состава находится в диапазоне от около 7,0 до около 9,0.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту способ дополнительно включает в себя добавление достаточного количества соли пирофосфата для стабилизации фосфаплатинового соединения в жидком составе.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту указанное фильтрование проводят в стерильных условиях.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту указанный способ дополнительно включает в себя стадию d) заливки раствора во флакон, закрывание пробкой и укупоривание флакона в стерильной среде таким образом, чтобы состав был готов к применению.

В другом варианте осуществления изобретения по данному аспекту полученный жидкий состав представляет собой состав в соответствии с любым одним из вариантов осуществления изобретения, описанных в данном документе, или в соответствии с любой их комбинацией.

Когда термин "около" применяется к параметру, например, к уровню pH, к концентрации и т.п., это указывает на то, что параметр может варьироваться на ±10%, предпочтительно в пределах ±5% и более предпочтительно в пределах ±5%. Как должно быть понятно специалисту в данной области техники, когда параметр не является критическим, число часто дается только в целях иллюстрации, а не для ограничения.

Используемые в данном документе определения в единственном числе относятся как к форме единственного числа, так и к форме множественного числа. В целом, когда используется форма единственного или множественного числа существительного, она обозначает как форму единственного числа, так и форму множественного числа существительного.

Данное изобретение в равной степени применимо ко всем стереоизомерам комплексов пиро-DACH-2, как должно быть понятно специалисту в данной области техники, хотя в следующем ниже подробном описании в качестве неограничивающего примера для иллюстрации некоторых аспектов данного изобретения используется только изомер (R,R)-пиро-DACH-2 (или "PT-112").

(R,R)-пиро-DACH-2 представляет собой двухосновную кислоту, проявляющую низкую растворимость в воде. Значения константы ионизации pKa двух кислотных групп в (R,R)-пиро-DACH-2 составляют приблизительно 2,6 и 4,4 (Inorg. Chem. 47, 7942 (2008)). Таким образом, простое растворение (R,R)-пиро-DACH-2 образует кислотный раствор. В кислых водных условиях (R,R)-пиро-DACH-2 быстро подвергается гидролитическому расщеплению. При более высоких значениях pH, когда кислотные группы (R,R)-пиро-DACH-2 ионизированы, растворимость (R,R)-пиро-DACH-2 возрастает. Кроме того, депротонирование кислотных групп в (R,R)-пиро-DACH-2 резко снижает скорость гидролитического расщепления. Два значения константы ионизации pKa (R,R)-пиро-DACH-2 показывают, что водный раствор (R,R)-пиро-DACH-2 в физиологическом диапазоне pH 7,0-7,5 не будет иметь буферной емкости. Таким образом, регулирование pH водного раствора в физиологическом диапазоне pH, а тем более точное и воспроизводимое приготовление водных растворов (R,R)-пиро-DACH-2 в этом диапазоне pH посредством регулирования pH водного раствора (R,R)-пиро-DACH-2 гидроксидным основанием, является чрезвычайно сложным. Следовательно разработка водных составов (R,R)-пиро-DACH-2 с регулируемой стабильностью pH в физиологическом диапазоне pH 7-7,5 преимущественно требует использования буфера. Это представляет собой уникальную сложную задачу, поскольку пирофосфатный лиганд в (R,R)-пиро-DACH-2 кинетически лабилен в растворе и может потенциально подвергаться реакции с анионами, присутствующими во многих буферах. В табл. 1

приведено снижение активности, измеренное посредством ВЭЖХ, водных растворов 1 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в различных буферах при температуре окружающей среды. Система ВЭЖХ и условия, используемые для отслеживания стабильности, приведены в табл. 2.

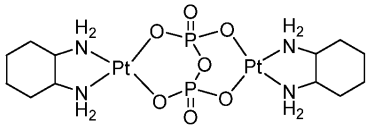
Таблица 1

Буфер	Конц. буфера (мМ)	pH	Снижение активности			
			4 дня	7 дней	11 дней	14 дней
Ацетат	20 мМ	5,32	-	13,5%	-	-
Лимонная кислота	20 мМ	6,51	1,9%	-	3,9%	-
Триэтаноламин	20 мМ	7,97	1,9%	-	5,7%	-
L-аргинин	20 мМ	7,72	4,0%	-	10%	-
NH_4HCO_3	100 мМ	7,94	-	-	-	47,1%
NH_4HCO_3	50 мМ	7,83	-	-	-	18,0%
NH_4HCO_3	20 мМ	7,68				8,0%

Таблица 2

Колонка	Waters Symmetry C18, 4,6 x 250 мм, размер частиц 5 мкм
Температура колонки	Температура окружающей среды
Линейная скорость потока	1 мг/мл
Объем впрыска	25 мкл
Подвижная фаза	15% ацетонитрила/85% 5 мМ тетрабутиламмония гидросульфат + 10 мМ Na_2HPO_4
Обнаружение	В ультрафиолете

Для разработки стабильного готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 с pH, регулируемым в диапазоне 7,0-8,0, отбор буферов по отсутствию их химической активности по отношению к (R,R)-пиро-DACH-2 в водном растворе приводит к установлению фосфатных и бикарбонатных/карбонатных буферов как наиболее предпочтительных. Наблюдалась температура, влияющая на стабильность, причем более низкая стабильность наблюдалась при более высоких температурах. Также было обнаружено, что концентрация буфера оказывает влияние на стабильность раствора (R,R)-пиро-DACH-2, причем более низкая стабильность наблюдается при более высоких концентрациях буфера; при этом воздействие катиона, связанного с буфером (например, калия в отличие от натрия и т.д.), оказалось минимальным, если таковое имело место. Было обнаружено, что pH в бикарбонатной/карбонатной буферной системе оказывает значительное влияние на стабильность (R,R)-пиро-DACH-2, при этом снижается стабильность, наблюдаемая при более высоком значении pH, при котором отношение концентраций карбонатного иона к бикарбонатному иону увеличивается. Напротив, было обнаружено, что в фосфатных буферах pH оказывает минимальное влияние на стабильность (R,R)-пиро-DACH-2, когда pH был выше 7. При pH ниже 7 наблюдался распад, приводящий к образованию димерных молекул (димера (R,R)-пиро-DACH-2), которые являются высоконерастворимыми и выпадают в осадок из раствора. Учитывая возможность распада в присутствии карбонатного иона в бикарбонатной/карбонатной буферной системе и потенциальные потери буферной емкости, обусловленной равновесным состоянием с CO_2 в атмосфере или в верхнем пространстве емкости, фосфат является превосходной буферной системой для изготовления водного буферизированного готового к применению состава (R,R)-пиро-DACH-2 с регулируемым в физиологическом диапазоне pH 7-7,5, особенно в установке для крупносерийного производства.



«Пиро-DACH-2 димер»

Замораживание водного состава является одним из способов замедлить скорость распада и улучшить стабильность лекарственного вещества, созданного в водной среде. Было оценено влияние цикла замораживания-оттаивания на стабильность (R,R)-пиро-DACH-2 в разнообразных буферах. Данные, приведенные в табл. 3, показывают более высокий уровень распада при более высоких концентрациях буфера. Кроме того, более высокий уровень распада наблюдается с натриевой солью по сравнению с калиевой солью в фосфатных буферных системах в соответствии с наблюдением селективного осаждения динатрийфосфата в процессе замораживания, что приводит к значительному снижению уровня pH в процессе замораживания, явление, не наблюдаемое с калий-фосфатным буфером (Archives of Biochemistry and Biophysics 384, 398, 2000). Следовательно в фосфатно-буферных (R,R)-пиро-DACH-2 составах использование калиевых солей предпочтительно использованию натриевых солей.

Таблица 3

1 мг/мл раствора (R,R)-пиро-DACH-2 **в**	**PH раствора**	**Изменение степени чистоты после цикла замораживания и оттаивания**
10 мМ фосфата Na	7,02	99,5%
100 мМ фосфата Na	6,98	96,3%
10 мМ фосфата K	7,01	99,7%
100 мМ фосфата K	7,02	99,1%
10 мМ карбоната Na	10,84	99,1%
100 мМ карбоната Na	11,39	93,7%
10 мМ бикарбоната Na	8,18	99,5%
100 мМ бикарбоната Na	8,06	98,8%

Растворимость (R,R)-пиро-DACH-2 в водном буферном растворе при pH 7-7,5 указывает на то, что легко могут быть получены растворы, достигающие, по меньшей мере, 20 мг/мл. Однако клиническое применение платиновых онколитических агентов, таких как (R,R)-пиро-DACH-2, указывает на то, что наиболее востребованная концентрация готового к применению водного состава составляет 5 мг/мл. Моделирование буферной емкости показывает, что концентрация фосфата или бикарбоната 10 мМ обеспечивает достаточную буферную емкость и приемлемый контроль pH для водного 5 мг/мл раствора (R,R)-пиро-DACH-2.

Быстрое гидролитическое расщепление (R,R)-пиро-DACH-2, в частности, образование высокорастворимой димерной примеси, как при растворении (R,R)-пиро-DACH-2 в воде, так и в буферной среде, например в фосфатном буфере, когда pH ниже нейтрального, исключает крупномасштабное производство водного готового к применению состава (R,R)-пиро-DACH-2, доведенного до физиологического диапазона pH 7-7,5 посредством простого добавления основания к суспензии (R,R)-пиро-DACH-2 в воде или добавления буферного раствора для растворения с последующим доведением до желаемого диапазона pH. Скорее, эффективный контроль распада и образования примесей требует растворения (R,R)-пиро-DACH-2 в условиях почти нейтрального или щелочного pH. Мы обнаружили, что это может быть достигнуто посредством добавления (R,R)-пиро-DACH-2 к раствору буфера и добавления достаточного количества гидроксидного основания, чтобы нейтрализовать весь добавленный (R,R)-пиро-DACH-2. После растворения всех твердых веществ pH раствора доводят до конечного требуемого диапазона посредством добавления небольшого количества гидроксида. Таким образом, растворение лекарственного вещества проводят в условиях pH, близкого к нейтральному или щелочному.

Настраиваемый и промышленно приемлемый способ изготовления готового к применению состава (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ буфере, доведенном до pH 7,0-7,5, включает в себя следующие стадии: a) получение 10 мМ водного раствора буфера; b) добавление достаточного количества гидроксидного основания для нейтрализации добавленного (R,R)-пиро-DACH-2 и достижения уровня pH около 7; c) добавление (R,R)-пиро-DACH-2 с возможностью его растворения; d) при необходимости, добавление дополнительного гидроксида для регулирования уровня pH в диапазоне около 7,0-7,5; и e) фильтрование раствора в стерильных условиях, заливка раствора в стеклянные флаконы и закрывание их пробкой и/или колпачком. Были получены данные по стабильности на двух больших партиях 5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ буфере фосфата калия. Одна такая партия при pH 7,2 была оценена как при 25°C/60%ОВ, так и в охлажденном (2-8°C) состоянии, с данными, приведенными в табл. 4 и 5 соответственно. Наряду с тем, что при 25°C/60%ОВ в течение 24 месяцев наблюдается медленный распад, в охлажденном состоянии состав проявляет отличную стабильность в течение того же или даже более продолжительного периода (36 месяцев) (см. табл. 5). Аналогичные наблюдения были сделаны для готового к применению жидкого состава при pH 7,4, как проиллюстрировано в табл. 6 и табл. 7.

Таблица 4. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 25°C/60%ОВ (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ калий-фосфатном буфере при pH 7,2), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	99,8%	96,5%	99,5%	98,2%	97,9%	97,5%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	2%	2%	2%	2%	3%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,15%	0,09%	0,19%	0,13%	0,15%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,98%	0,75%	0,96%	0,73%	1,05%	1,03%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	НО	0,22%	0,32%	0,37%	0,38%	0,40%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,19%	0,33%	0,36%	0,37%	0,36%	0,37%
RRT 0,41	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 0,46	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 0,50	НО	НО	0,05%	0,08%	0,09%	0,15%
RRT 0,58	0,13%	0,13%	0,15%	0,18%	0,20%	0,21%
RRT 0,67	0,05%	0,06%	0,09%	0,06%	0,07%	0,07%
RRT 0,86	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%
RRT 3,46	НО	НО	НО	НО	0,05%	НО
RRT 3,65	НО	НО	0,08%	0,11%	0,13%	0,24%
RRT 4,97	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%
pH	7,2	7,2	7,2	7,3	7,1	7,2
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	НИ	НИ	Стерильный
Механические включения (Светоблокировка)[1]	219 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	НИ	20 частиц на ёмкость
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	НИ	3 частицы на ёмкость
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл

Параметр	Исходный	9 месяцев	12 месяцев	15 месяцев	18 месяцев	24 месяца
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	99,8%	96,8%	96,8%	98,1%	99,0%	97,5%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	3%	3%	3%	4%	5%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,16%	0,18%	0,14%	0,14%	0,15%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,98%	1,10%	0,91%	0,84%	1,04%	0,83%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	НО	0,30%	0,44%	0,41%	0,40%	0,41%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,19%	0,39%	0,33%	0,29%	0,30%	0,36%
RRT 0,41	НО	НО	0,05%	0,07%	0,06%	0,12%
RRT 0,46	НО	НО	НО	НО	НО	0,10%
RRT 0,50	НО	0,19%	0,26%	0,37%	0,36%	0,70%
RRT 0,58	0,13%	0,27%	0,26%	0,26%	0,29%	0,17%
RRT 0,67	0,05%	0,10%	0,13%	0,07%	0,11%	0,07%
RRT 0,86	НО	0,05%	0,05%	НО	0,14%	НО
RRT 3,46	НО	НО	НО	НО	НО	0,07%
RRT 3,65	НО	0,39%	0,52%	0,63%	0,75%	1,24%
RRT 4,97	НО	0,08%	0,20%	0,28%	0,43%	0,73%
pH	7,2	7,2	7,2	7,3	7,2	7,2
Стерильность	Стерильный	НИ	Стерильный	НИ	НИ	Стерильный
Механические включения (Светоблокировка)	219 частиц на ёмкость	НИ	36 частиц на ёмкость	НИ	НИ	81 частица на ёмкость
	11 частиц на ёмкость	НИ	2 частицы на ёмкость	НИ	НИ	4 частицы на ёмкость
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл

НО = не обнаружено; НИ = не испытано

Таблица 5. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 2-8°C (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ калий-фосфатном буфере при pH 7,2), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	99,8%	97,7%	100,1%	98,2%	98,6%	98,4%	97,8%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	1%	1%	2%	2%	2%	2%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,17%	0,09%	0,18%	0,13%	0,18%	0,14%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,98%	0,84%	0,91%	0,82%	0,88%	0,91%	1,05%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	НО	НО	НО	0,08%	0,07%	0,10%	0,10%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,19%	0,21%	0,25%	0,31%	0,27%	0,28%	0,29%
RRT 0,46	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 0,50	НО	НО	НО	НО	0,05%	НО	НО
RRT 0,56	0,13%	0,11%	0,10%	0,12%	0,13%	0,12%	0,16%
RRT 0,68	0,05%	НО	0,06%	0,05%	НО	0,05%	0,06%
RRT 3,54	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО
pH	7,2	7,2	7,2	7,2	7,3	7,3	7,2
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	НИ	НИ	Стерильный	НИ
Механические включения (Светоблокировка)	219 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	НИ	150 частиц на ёмкость	НИ
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	НИ	8 частиц на ёмкость	НИ
Бактериальные эндотоксины (кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл	НИ

Параметр	Исходный	12 месяцев	15 месяцев	18 месяцев	24 месяца	30 месяцев	36 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от тверды х частиц
Содержание основного вещества (активность)	99,8%	97,8%	98,7%	100,3%	97,1%	98,2%	97,8%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	2%	2%	2%	2%	2%	3%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,20%	0,15%	0,15%	0,17%	0,14%	0,12%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,98%	1,02%	0,92%	0,93%	0,82%	0,96%	1,16%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	НО	0,16%	0,22%	0,19%	0,22%	0,31%	0,30%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,19%	0,29%	0,29%	0,31%	0,31%	0,33%	0,36%
RRT 0,46	НО	НО	НО	НО	0,06%	НО	0,07%
RRT 0,50	НО	0,06%	0,07%	0,07%	0,22%	0,17%	0,23%
RRT 0,56	0,13%	0,16%	0,19%	0,19%	0,09%	0,19%	0,11%
RRT 0,68	0,05%	0,10%	0,06%	0,07%	0,05%	0,08%	0,09%
RRT 3,54	НО	НО	НО	0,05%	0,11%	0,10%	0,14%
pH	7,2	7,2	7,2	7,3	7,2	7,2	7,2
Стерильность	Стерильный	Стерильный	НИ	НИ	Стерильный	Стерильный	НИ
Механические включения (Светоблокировка)	219 частиц на ёмкость	236 частиц на ёмкость	НИ	НИ	41 частица на ёмкость	62 частицы на ёмкость	НИ
	11 частиц на ёмкость	4 частицы на ёмкость	НИ	НИ	12 частиц на ёмкость	6 частиц на ёмкость	НИ
Бактериальные эндотоксины (кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл	<0,35 ЕЭ/мл	НИ

НО = не обнаружено; НИ = не испытано

Таблица 6. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 25°C/60%ОВ (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ калий-фосфатном буфере при pH 7,4), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Начальный	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	98,1%	98,4%	99,2%	96,7%	98,2%	98,0%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	3%	3%	3%	4%	4%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,16%	0,15%	0,19%	0,14%	0,11%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,84%	1,12%	0,92%	0,30%	0,79%	0,92%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	0,11%	0,56%	0,77%	0,86%	0,84%	0,82%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,34%	0,35%	0,33%	0,36%	0,34%	0,30%
RRT 0,42	НО	НО	НО	0,06%	0,08%	0,10%
RRT 0,46	НО	НО	НО	0,09%	0,08%	0,07%
RRT 0,50	0,06%	0,07%	0,11%	0,31%	0,39%	0,38%
RRT 0,56	0,08%	0,15%	0,20%	0,09%	0,11%	0,19%
RRT 0,68	0,09%	0,21%	0,11%	0,16%	0,11%	0,11%
RRT 0,86	НО	0,06%	0,05%	0,07%	0,06%	0,05%
RRT 3,29	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,41	НО	НО	НО	НО	0,08%	НО
RRT 3,44	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,58	НО	НО	0,14%	0,37%	0,65%	0,70%
RRT 4,95	НО	НО	НО	0,06%	0,21%	0,34%
pH	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,5
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	Стерильный	НИ	Стерильный
Механические включения (Светоблокировка)[1]	30 частиц на ёмкость	НИ	НИ	87 частиц на ёмкость	НИ	118 частиц на ёмкость
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	3 частицы на ёмкость	НИ	7 частиц на ёмкость
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)[1]	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	<0,35 ЕЭ/мл

Параметр	Начальный	15 месяцев	18 месяцев	21 месяц	24 месяца
Номер ссылки на лабораторный журнал	**1245-6-46**	**1245-14-36**	**1245-14-49**	**1245-14-59**	**1245-14-76**
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	98,1%	96,8%	96,9%	96,3%	94,6%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	4%	5%	6%	6%
Отдельные сопутствующие примеси					
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,13%	0,12%	0,11%	0,11%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,84%	0,92%	0,78%	1,13%	0,85%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	0,11%	0,78%	0,73%	0,75%	0,72%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,34%	0,28%	0,29%	0,28%	0,28%
RRT 0,42	НО	0,12%	0,15%	0,16%	0,18%
RRT 0,46	НО	0,08%	0,13%	0,12%	0,12%
RRT 0,50	0,06%	0,44%	0,59%	0,60%	0,70%
RRT 0,56	0,08%	0,20%	0,09%	0,17%	0,17%
RRT 0,68	0,09%	0,11%	0,08%	0,12%	0,13%
RRT 0,86	НО	0,05%	0,05%	НО	0,05%
RRT 3,29	НО	НО	НО	НО	0,06%
RRT 3,41	НО	НО	НО	0,07%	НО
RRT 3,44	НО	НО	0,12%	0,05%	0,05%
RRT 3,58	НО	0,78%	1,06%	1,12%	1,07%
RRT 4,95	НО	0,51%	0,69%	0,89%	1,12%
pH	7,4	7,5	7,5	7,4	7,4
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
Механические включения (Светоблокировка)	30 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению

Таблица 7. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 2-8°C (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ калий-фосфатном буфере при pH 7,4), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	98,1%	98,7%	99,7%	98,2%	100,2%	98,7%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	2%	2%	2%	2%	2%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,15%	0,14%	0,17%	0,14%	0,12%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,84%	1,04%	0,92%	0,28%	0,81%	0,96%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	0,11%	0,13%	0,25%	0,38%	0,39%	0,48%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,34%	0,33%	0,37%	0,36%	0,33%	0,34%
RRT 0,46	НО	НО	НО	0,06%	0,05%	НО
RRT 0,50	0,06%	0,06%	0,06%	0,18%	0,18%	0,15%
RRT 0,56	0,08%	0,10%	0,12%	0,06%	0,07%	0,16%
RRT 0,68	0,09%	0,19%	0,11%	0,16%	0,08%	0,11%
RRT 0,86	НО	0,05%	НО	0,05%	0,05%	0,05%
RRT 3,58	НО	НО	НО	НО	0,07%	НО
pH	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	Стерильный	НИ	Стерильный
Механические включения (Светоблокировка)	30 частиц на ёмкость	НИ	НИ	83 частицы на ёмкость	НИ	124 частицы на ёмкость
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	1 частица на ёмкость	НИ	6 частиц на ёмкость
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)[1]	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	<0,35 ЕЭ/мл

НО = не обнаружено или <0,05% площади

НИ = не испытано

Параметр	Исходный	15 месяцев	18 месяцев	21 месяц	24 месяца
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Содержание основного вещества (активность)	98,1%	98,0%	97,5%	97,4%	96,5%
Общее содержание сопутствующих примесей	2%	3%	2%	3%	3%
(DACH) Pt-диакво (~RRT 0,3)	0,16%	0,14%	0,13%	0,12%	0,11%
(DACH) Pt-моноакво (~RRT 0,7)	0,84%	0,94%	0,76%	1,07%	0,93%
(DACH) Pt-дихлорид (RRT 1,3-1,6)	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 3,1-3,2	0,11%	0,59%	0,58%	0,67%	0,65%
PT-112 димер (~RRT 4,0)	0,34%	0,34%	0,33%	0,35%	0,33%
RRT 0,46	НО	НО	0,09%	0,07%	0,08%
RRT 0,50	0,06%	0,16%	0,26%	0,23%	0,25%
RRT 0,56	0,08%	0,17%	0,06%	0,12%	0,12%
RRT 0,68	0,09%	0,12%	0,08%	0,14%	0,11%
RRT 0,86	НО	0,06%	0,05%	0,05%	0,06%
RRT 3,58	НО	0,07%	0,10%	0,10%	0,14%
pH	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
Стерильность	Стерильный	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
Механические включения (Светоблокировка)	30 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
	11 частиц на ёмкость	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению
Бактериальные эндотоксины (Кинетическая турбидиметрия)	<0,35 ЕЭ/мл	НИ	НИ	НИ	Подлежит определению

НО = не обнаружено или <0,05% площади
НИ = не испытано

Данные по стабильности в партии 5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ бикарбонатном буфере (pH 8,6) при 25°C/60%ОВ, 2-8°C и -20°C приведены в табл. 8, 9 и 10 соответственно.

Неожиданно было обнаружено, что добавление небольшого количества пирофосфатного иона значительно улучшает термическую стабильность готовых к применению водных составов (R,R)-пиро-DACH-2. Добавление не только замедляет скорость распада в зависимости от температуры, но также служит для снижения концентрации некоторого числа примесей, включая (DACH)Pt-Cl_2, примесь, которая может присутствовать в (R,R)-пиро-DACH-2, исходя из пути изготовления (WO 2013176764 A1), димер (R,R)-пиро-DACH-2 и примеси, которые образуются в (R,R)-пиро-DACH-2, созданном в фосфатном буфере, и элюируют при RRT~3,1-3,2 в системе ВЭЖХ, описанной в примере 3.

Способность добавленного пирофосфата снижать концентрацию димера (R,R)-пиро-DACH-2 является особенно предпочтительной, поскольку эта примесь легко образуется в водном растворе (R,R)-пиро-DACH-2 ниже 7, в высшей степени нерастворима и может, при очень низких концентрациях, осаждаться из водных растворов (R,R)-пиро-DACH-2. Например, в 5 мг/мл готовом к применению составе (R,R)-пиро-DACH-2, изготовленном в соответствии с примером 6, где начальная концентрация димера (R,R)-пиро-DACH-2 составляла ~0,6% площади, наблюдалось, что димер начинает осаждаться в виде кристаллического твердого вещества между 6 и 9 месяцем хранения при 2-8°C, причем кристаллизация наблюдается во всех флаконах с образцами при 12 месяцах хранения.

Таблица 8. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 25°C/60%ОВ (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ бикарбонатном буфере при pH 8,6), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
Внешний вид	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц
Активность (Содержание основного вещества)	100,3%	101,7%	99,9%	100,3%	98,9%	100,4%	101,6%	103,0%	99,2%	100,3%	98,4%
Чистота (% площади)	98,04%	97,74%	97,77%	97,33%	97,44%	96,45%	96,08%	95,98%	95,03%	93,82%	92,23%
Неизвестные примеси											
RRT ~0,29	0,11%	0,11%	0,12%	0,16%	0,16%	0,19%	0,27%	0,16%	0,22%	0,15%	0,14%
RRT ~0,42	НО	0,05%	0,10%	0,15%	0,21%	0,56%	0,76%	0,96%	1,29%	1,88%	2,20%
RRT ~0,49	0,62%	0,78%	0,77%	0,76%	0,75%	0,79%	0,78%	0,94%	0,80%	0,84%	0,86%
RRT ~0,59	НО	0,06%	НО	0,12%	0,15%	0,26%	0,25%	0,17%	0,32%	0,32%	0,32%
RRT ~0,73	1,05%	1,12%	1,17%	1,26%	1,03%	0,97%	0,92%	0,73%	0,82%	0,43%	0,97%
RRT ~1,82	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%	0,06%
RRT ~2,85	НО	НО	НО	НО	НО	0,12%	0,17%	0,17%	0,15%	0,32%	0,37%
RRT ~3,00	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,07%	НО	0,06%
RRT ~3,15	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,07%	0,06%
RRT ~3,30	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%	0,10%	0,12%
RRT ~3,45	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%	НО	НО	НО	0,06%	0,05%

Параметр	Исходный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
RRT ~3,74	НО	НО	НО	0,06%	0,08%	0,31%	0,40%	0,58%	0,69%	0,88%	1,07%
RRT ~4,27	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,06%	0,06%	0,08%	0,13%	0,15%
RRT ~4,99	НО	НО	НО	НО	НО	0,07%	0,14%	0,20%	0,36%	0,66%	1,02%
pH	8,60	8,57	8,64	8,67	8,68	8,73	9,01	8,90	8,93	9,08	9,07

НО = не обнаружено или <0,05%; НИ = не испытано; RRT = относительная продолжительность удержания

Таблица 9. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 2-8°C (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ бикарбонатном буфере при pH 8,6), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
Внешний вид	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц
Активность (содержание основного вещества)	100,3%	101,9%	100,5%	100,0%	99,1%	102,4%	102,3%	103,5%	100,4%	102,2%	100,3%
Чистота (% площади)	98,04%	98,02%	97,99%	97,91%	97,85%	97,58%	97,76%	98,07%	97,56%	97,73%	96,64%
Неизвестные примеси											
RRT ~0,29	0,11%	0,10%	0,12%	0,14%	0,14%	0,21%	0,29%	0,15%	0,23%	0,15%	0,13%
RRT ~0,35	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%
RRT ~0,41	НО	НО	НО	НО	0,05%	0,11%	0,13%	0,16%	0,23%	0,33%	0,47%
RRT ~0,49	0,62%	0,60%	0,63%	0,56%	0,55%	0,62%	0,53%	0,68%	0,65%	0,58%	0,64%
RRT ~0,59	НО	НО	0,06%	0,07%	0,08%	0,15%	0,15%	0,09%	0,21%	0,24%	0,27%
RRT ~0,73	1,05%	1,11%	1,14%	1,11%	1,14%	1,03%	0,89%	0,72%	0,90%	0,43%	0,98%
RRT ~1,51	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,06%	0,05%	НО	0,05%	НО
RRT ~2,82	НО	НО	НО	НО	НО	НО	0,05%	0,05%	НО	0,13%	0,19%
RRT ~3,44	НО	НО	НО	НО	НО	0,06%	НО	НО	0,09%	0,16%	0,28%

Параметр	Начальный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
pH	8,60	8,57	8,65	8,67	8,73	8,76	8,95	8,83	8,84	9,07	8,97

НО = не обнаружено или <0,05%; НИ = не испытано; RRT = относительная продолжительность удержания

Таблица 10. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при -20°C (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ бикарбонатном буфере при pH 8,6), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
Внешний вид	Прозрачный раствор свободный от твердых частиц	НИ	НИ	НИ	Бледно-желтый раствор свободный от твердых частиц	НИ	НИ	НИ	Прозрачный раствор с желтым осадком с момента равновесного состояния[1]	НИ	Прозрачный раствор с желто-коричневым осадком с момента равновесного состояния[2]
Активность (анализ на содержание основного вещества)	100,3%	НИ	НИ	НИ	97,5%	НИ	НИ	НИ	98,4%	НИ	86,1%
Степень чистоты (% площади)	98,04%	НИ	НИ	НИ	97,08%	НИ	НИ	НИ	96,36%	НИ	90,94%
Неизвестные примеси											
RRT ~0,29	0,11%	НИ	НИ	НИ	0,16%	НИ	НИ	НИ	0,23%	НИ	0,13%
RRT ~0,41	НО	НИ	НИ	НИ	0,07%	НИ	НИ	НИ	0,45%	НИ	5,26%
RRT ~0,44	НО	НИ	НИ	НИ	0,09%	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НО
RRT ~0,49	0,62%	НИ	НИ	НИ	0,94%	НИ	НИ	НИ	1,41%	НИ	1,19%
RRT ~0,59	НО	НИ	НИ	НИ	0,09%	НИ	НИ	НИ	0,15%	НИ	0,27%
RRT ~0,62	НО	НИ	НИ	НИ	0,12%	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	0,43%
RRT ~0,73	1,05%	НИ	НИ	НИ	1,12%	НИ	НИ	НИ	0,84%	НИ	0,88%
RRT ~1,69	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НИ	НИ	0,22%	НИ	0,25%
RRT ~2,96	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	0,08%
RRT ~3,02	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	0,09%
RRT ~3,12	НО	НИ	НИ	НИ	0,05%	НИ	НИ	НИ	0,08%	НИ	0,05%

Параметр	Начальный	1 неделя	2 недели	3 недели	1 месяц	2 месяца	3 месяца	4 месяца	6 месяцев	9 месяцев	12 месяцев
RRT ~3,24	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	0,06%
RRT ~3,30	НО	НИ	НИ	НИ	0,05%	НИ	НИ	НИ	0,06%	НИ	0,13%
RRT ~3,33	НО	НИ	НИ	НИ	0,06%	НИ	НИ	НИ	0,05%	НИ	0,06%
RRT ~3,70	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	НИ	НИ	НО	НИ	0,09%
RRT ~4,02	НО	НИ	НИ	НИ	0,08%	НИ	НИ	НИ	0,09%	НИ	0,14%
pH	8,60	НИ	НИ	НИ	8,77	НИ	НИ	НИ	8,72	НИ	8,83

НО = не обнаружено или <0,05%; НИ = не испытано; RRT = относительная продолжительность удержания

[1] Проявляется способность к пептизации при перемешивании вручную и кратковременном воздействии ультразвука

[2] Не способен пептизироваться при перемешивании вручную и кратковременном воздействии ультразвука

Сравнение данных по стабильности для раствора (R,R)-пиро-DACH-2 с концентрацией 5 мг/мл в 10 мМ калий-фосфатном буфере, доведенном до pH 7,0-7,5 при 25°C/60%ОВ из табл. 4, с данными по стабильности для состава с такой же концентрацией, содержащего ~0,5 молярного эквивалента добавленного пирофосфата из табл. 11 показывает, что добавление пирофосфатного иона резко замедляет скорость распада (R,R)-пиро-DACH-2 таким образом, что стабильность состава с пирофосфатом при 25°C сравнима/превосходит стабильность состава без добавления пирофосфата, хранящегося в охлажденном состоянии. Данные по стабильности состава с добавлением пирофосфата при 40°C/75%ОВ из табл. 12 еще более выразительные. Кинетика/расчет экспериментальных исследований были использованы для демонстрации влияния пирофосфата на буферизированные водные буферные готовые к применению составы (R,R)-пиро-DACH-2 (пример 9).

Данные дополнительно демонстрируют, что добавление буферной соли, например, фосфата или карбоната/бикарбоната, не требуется для достижения контроля pH, а скорее буферная емкость пирофосфата в физиологическом диапазоне pH является достаточной для контроля pH в водном составе (R,R)-пиро-DACH-2. С клинической точки зрения, поддержание минимального количества пирофосфатного иона в водном составе (R,R)-пиро-DACH-2 является желательным. Было обнаружено, что соотношение 1 молярного эквивалента пирофосфатного иона к (R,R)-пиро-DACH-2 обеспечивает достаточную стабильность водных растворов (R,R)-пиро-DACH-2 при физиологическом уровне pH таким образом, что созданный готовый к применению состав будет иметь коммерческий срок годности, составляющий несколько лет при хранении согласно стандартным условиям долгосрочного хранения, установленным Международным комитетом по гармонизации (ICH) при 25°C/60%ОВ (т.е. при температуре окружающей среды). Было обнаружено, что молярное соотношение ~0,5 моль пирофосфатного иона к (R,R)-пиро-DACH-2 более оптимальным образом обеспечивает приемлемую стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2. Наиболее предпочтительно состав состоит из 5 мг/мл водного раствора (R,R)-пиро-DACH-2 в пирофосфате, с pH, доведенным до 7-7,5. Кроме того, включения пирофосфатного иона в состав или в качестве эксклюзивного буферного агента устраняют возможность осаждения примесей и, в частности, высокорастворимой примеси димера (R,R)-пиро-DACH-2 из водных готовых к применению составов (R,R)-пиро-DACH-2.

Таблица 11. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 25°C/60%ОВ (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ натрий-фосфатном буфере, 5,2 Мм пирофосфата натрия при pH 7,5), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 месяц	2 месяца	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Активность (содержание основного вещества)	102,0%	102,2%	103,8%	101,4%	102,8%	101,7%
Отдельные сопутствующие примеси						
RRT 0,28-0,29	0,14%	0,10%	0,20%	0,17%	0,17%	0,18%
RRT 0,50-0,51	0,08%	0,08%	0,15%	0,11%	0,12%	0,21%
RRT 0,58	0,34%	0,39%	0,38%	0,43%	0,44%	0,42%
RRT 0,73-0,74	0,83%	0,71%	0,92%	0,88%	0,81%	0,27%
RRT 0,92	0,05%	НО	НО	НО	НО	НО
RRT 1,57	0,12%	НО	НО	НО	НО	НО
PT-112 димер	0,16%	НО	НО	НО	НО	НО
Общее содержание сопутствующих примесей	1,7%	1,3%	1,6%	1,6%	1,5%	1,2%
pH	7,5	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6

Таблица 12. Стабильность готового к применению водного состава (R,R)-пиро-DACH-2 при 40°C/75%RH (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ натрий-фосфатном буфере, 5,2 мМ пирофосфата натрия при pH 7,5), разлитого в 10 мл флаконы

Параметр	Исходный	1 месяц	2 месяца	3 месяца	6 месяцев
Внешний вид	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц	Прозрачный бесцветный раствор свободный от твердых частиц
Активность (содержание основного вещества)	102,0%	101,6%	103,8%	101,5%	102,8%
Отдельные сопутствующие примеси					
RRT 0,28-0,29	0,14%	0,10%	0,19%	0,16%	0,17%
RRT 0,50-0,51	0,08%	0,10%	0,19%	0,16%	0,22%
RRT 0,58	0,34%	0,41%	0,41%	0,48%	0,47%
RRT 0,73-0,74	0,83%	0,68%	0,88%	0,86%	0,81%
RRT 0,92	0,05%	НО	НО	НО	НО
RRT 1,57	0,12%	НО	НО	НО	НО
RRT 3,66-3,71	НО	НО	0,07%	0,11%	0,18%
PT-112 димер	0,16%	НО	НО	НО	НО
Общее содержание сопутствующих примесей	1,7%	1,3%	1,7%	1,8%	1,9%
pH	7,5	7,6	7,6	7,5	7,5

В следующем эксперименте показано фактическое подтверждение того, что добавление пирофосфата изменяет в противоположном направлении образование димера PT-112 в водных составах PT-112. Приготовили 5 мг/мл водного раствора PT-112 посредством растворения PT-112 в 10 мМ калий-фосфатном буфере, содержащем добавленный гидроксид калия, таким образом, что конечный уровень pH раствора составил ~6,5. Раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение около 24 ч, за это время уровень димера PT-112 повысился от около 0,33% в активной фармацевтической субстанции (API) до около 1,02% в приготовленном растворе. При последующем регулировании pH части раствора гидроксидом калия до pH ~ 7,5 наблюдалось постепенное снижение концентрации димера в течение 7 дней при температуре окружающей среды, сопровождающееся соответствующим увеличением примеси RRT 3,1-3,2. Однако при доведении pH порции раствора гидроксидом калия до pH ~ 7,5 и при добавлении 0,5 экв. пирофосфата, уровень димера, как наблюдалось, постепенно снизился до практически не поддающегося обнаружению уровня через 9 дней при температуре окружающей среды. Снижение не сопровождалось ни образованием примеси RRT 3,1-3,2; ни образованием каких-либо новых примесей, а скорее, наблюдалось увеличение концентрации PT-112.

Пример 1. Влияние буферной силы.

Приготовление буферного раствора.

10 мМ фосфата натрия, pH 7.

200 мл 10 мМ фосфата натрия двухосновного довели до ~177 мл 10 мМ фосфата натрия одноосновного.

Конечный pH 7,02.

100 мМ фосфата натрия, pH 7.

200 мл 100 мМ фосфата натрия двухосновного довели до ~138 мл 100 мМ фосфата натрия одноосновного.

Конечный pH 6,98.

10 мМ фосфата калия, pH 7.

200 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~126 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 7,01.

100 мМ фосфата калия, pH 7.

200 мл 100 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~125 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 7,02.

10 мМ карбоната натрия.

Регулирование уровня pH не выполняется.

Конечный pH 10,84.

100 мМ карбоната натрия.

Регулирование уровня pH не выполняется.

Конечный pH 11,39.

10 мМ бикарбоната натрия.

Регулирование уровня pH не выполняется.

Конечный pH 8,18.

100 мМ бикарбоната натрия.

Регулирование уровня pH не выполняется.

Конечный pH 8,06.

(R,R)-пиро-DACH-2 растворили в каждом из этих буферов для приготовления раствора 1 мг/мл. Активность укупоренных растворов, хранящихся в камерах для исследования стабильности с регулируемыми температурой/уровнем относительной влажности при 25°C/60%ОВ и при 40°C/75%ОВ, контролировали с помощью ВЭЖХ. См. фиг. 1 и 2.

Пример 2. Влияние уровня pH на стабильность фосфатного буферного раствора.

Приготовление буферного раствора.

10 мМ фосфата калия, pH 6,5.

50 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~145 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 6,50.

10 мМ фосфата калия, pH 7.

200 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~126 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 7,01.

10 мМ фосфата калия, pH 7,5.

50 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~14 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 7,50.

10 мМ фосфата калия, pH 8,0.

50 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~4 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 8,00.

10 мМ фосфата калия, pH 8,5.

50 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до ~1 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 8,49.

10 мМ фосфата калия, pH 9,0.

90 мл 10 мМ фосфата калия двухосновного довели до <1 мл 10 мМ фосфата калия одноосновного.

Конечный pH 9,02.

(R,R)-пиро-DACH-2 растворили в каждом из этих буферов для приготовления 1 мг/мл раствора. Активность укупоренных растворов, хранящихся в камерах для исследования стабильности с контролируемой температурой/уровнем относительной влажности при 25°C/60%ОВ и при 40°C/75%ОВ, контролировали с помощью ВЭЖХ, данные по которой, представленные при T=3 дня для буферного раствора с pH 7,0, показаны на фиг. 3 и 4 соответственно.

Пример 3. Система ВЭЖХ.

Параметр	Состояние
Колонка	Waters XSelect HSS T3, 4,6 мм x 100 мм, 3,5 мкм
Рабочий объем	100 мкл
Температура колонки	10,0°C ± 2,0°C
Температура образца	Температура окружающей среды
Подвижная фаза A	50 мМ фосфата натрия, pH 2,0
Подвижная фаза B	100% ацетонитрила
Разбавитель	20 мМ пирофосфата натрия
Объем впрыска	6 мкл
Время выполнения	24 минуты
Рабочая длина волны детектора	205 нм

Время (минуты)	Расход (мл/мин)	% подвижной фазы A	% подвижной фазы B
0,00	1,5	100,0	0,0
4,93	1,5	100,0	0,0
14,53	1,5	90,0	10,0
16,53	1,5	100,0	0,0
24,00	1,5	100,0	0,0

Пример 4. Готовый к применению состав 5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ бикарбоната натрия с pH 9,0-9,5 (протокол исследования стабильности (R,R)-пиро-DACH-2 от Pharmatek).

Перенесите 1680,0±0,5 мг бикарбоната натрия в 2-литровую мерную колбу.

Заполните колбу приблизительно на 75% объема водой, взболтайте, при необходимости, для растворения всех твердых веществ.

Волюмометрически перенесите 32,0 мл 1 н. раствора NaOH в колбу.

Разбавьте до метки водой и хорошо перемешайте.

Запишите pH конечного раствора. Это разбавитель.

Перенесите 7653,1±0,5 мг (R,R)-пиро-DACH-2 в смесительную емкость.

Перенесите 1500 мМ разбавителя в емкость и перемешайте для растворения твердых веществ.

Запишите pH конечного раствора.

Пропустите весь раствор через стерильную 0,22 мкм фильтрующую мембрану в стерильную сборную емкость.

Рассчитайте концентрацию раствора (R,R)-пиро-DACH-2.

$$[(R,R)\text{-пиро-DACH-2}],\ \text{мг/мл} = \frac{\text{Wt (R,R)-пиро-DACH-2, мг} * \text{степень чистоты (R,R)-пиро-DACH-2}}{1500\ \text{мл}}$$

Проведите следующее в вытяжном шкафу с ламинарным потоком; заполните 10 мл стерильные флаконы из боросиликатного стекла 1-го типа с объемом заполнения 10 мл, закройте флаконы 20-миллиметровыми стерильными резиновыми пробками и обожмите 20 мм закручивающимися колпачками.

Разместите флаконы в камерах для исследования стабильности при 25°C/60%ОВ, 2-8°C и -20°C. Метод ВЭЖХ по примеру 3 для контроля степени чистоты и примесей.

Пример 5. 15 мг/мл готового к применению состава (R,R)-пиро-DACH-2.

V - необходимый конечный объем изготовленного раствора.

Растворите V×11,4 мг фосфата натрия трехосновного (додекагидрата)+V×4,26 мг натрия двухосновного (безводного) в V мл дистиллированной воды. Перемешивайте до растворения буферных солей.

К буферному раствору при перемешивании добавьте V×15 мг количество (R,R)-пиро-DACH-2; перемешивайте магнитной мешалкой до полного растворения твердого (R,R)-пиро-DACH-2 (10-30 мин).

Запишите pH раствора.

При необходимости отрегулируйте уровень pH до 7,0-7,4 посредством добавления V×1,8 мг фосфата натрия трехосновного (додекагидрата) при перемешивании до растворения, запишите конечный уровень pH.

Для того чтобы приготовить раствор (R,R)-пиро-DACH-2 более низкой концентрации, разбавьте 15 мг/мл вышеуказанного раствора (R,R)-пиро-DACH-2 с соответствующим количеством носителя.

Пример 6. 5 мг/мл готового к применению состава (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ фосфате калия pH 7,2-7,5.

Перенесите 4564,6±0,5 мг двухосновного фосфата калия, тригидрат в 2-литровую мерную колбу.

Заполните колбу приблизительно на 75% объема водой, взболтайте, при необходимости, для растворения всех твердых веществ.

Волюметрически перенесите 32,0 мл 1 н. раствора KOH в колбу.

Доведите содержимое колбы до метки водой и хорошо перемешайте.

Запишите pH конечного раствора. Это разбавитель.

Перенесите 7653,1±0,5 мг (R,R)-пиро-DACH-2 в смесительную емкость.

Перенесите 1500 мл разбавителя в емкость и перемешайте для растворения твердых веществ.

Запишите pH конечного раствора.

Пропустите весь раствор через стерильную 0,22 мкм фильтрующую мембрану в стерильную сборную емкость.

Рассчитайте концентрацию раствора (R,R)-пиро-DACH-2.

$$([(R,R)\text{-пиро-DACH-2}],\ \text{мг/мл} = \frac{\text{Wt (R,R)-пиро-DACH-2, мг} * \text{степень чистоты (R,R)-пиро-DACH-2}}{1500\ \text{мл}}$$

Пример 7. Готовый к применению состав 5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ фосфата натрия, 5,2 мМ пирофосфата натрия pH 7,5.

Перенесите 1419,6±14,0 мг безводного двухосновного фосфата натрия в 1-литровую мерную колбу.

Перенесите 2298,5±23,0 мг декагидрата тетранатрийпирофосфата в ту же 1-литровую мерную колбу.

Заполните колбу приблизительно на 75% объема стерильной водой для инъекций, взболтайте, при необходимости, для растворения всех твердых веществ.

Волюмометрически перенесите 8,0 мл 1 н. раствора NaOH в колбу.

Доведите содержимое колбы до метки водой и хорошо перемешайте.

Запишите pH конечного раствора. Это носитель.

Определите вес тары 500 мл смесительной емкости с мешалкой.

Перенесите 2500,1±25,0 мг (R,R)-пиро-DACH-2 в емкость.

Перенесите 450,0±0,1 г носителя в емкость и перемешайте для растворения твердых веществ.

Определите начальный уровень pH раствора.

Медленно отрегулируйте уровень pH раствора до 7,5±0,1 посредством добавления дополнительного 1 н. раствора NaOH.

Определите вес раствора с тарой и доведите вес раствора до 500,0±0,1 г посредством добавления дополнительного носителя в смесительную емкость. Плотность=1,00 г/мл.

Перемешивайте конечный раствор в течение дополнительных 5 мин.

Определите уровень pH конечного раствора.

Пропустите весь раствор через 0,22 мкм ПВДФ (поливинилиденфторид) фильтр Stericup в стерильный приемник для сбора.

Проведите следующее в ламинарном вытяжном шкафу; заполните 10 мл стерильные пробирки 10 мл раствора, укупорьте стерильной пробкой Flurotec и обожмите резиновой пробкой с алюминиевым колпачком.

Разместите пробирки в камерах для исследования стабильности при 40°C/75%ОВ и 25°C/60%ОВ. Метод ВЭЖХ по примеру 3 для отслеживания степени чистоты и примесей.

Пример 8. Готовый к применению состав 5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 5,2 мМ пирофосфата натрия pH 7,5.

Перенесите 2298,5±23,0 мг декагидрата тетранатрийпирофосфата в 1-литровую мерную колбу.

Заполните колбу приблизительно на 75% объема стерильной водой для инъекций, взболтайте, при необходимости, для растворения всех твердых веществ.

Волюмометрически перенесите 14,5 мл 1 н. раствора NaOH в колбу.

Доведите содержимое колбы до метки водой и хорошо перемешайте.

Запишите pH конечного раствора. Это носитель.

Определите вес тары 500 мл смесительной емкости с мешалкой.

Перенесите 2500,1±25,0 мг (R,R)-пиро-DACH-2 в емкость.

Перенесите 450,0±0,1 г носителя в емкость и перемешайте до растворения твердых веществ.

Определите исходный pH раствора.

Медленно отрегулируйте pH раствора до 7,5±0,1 посредством добавления дополнительного 0,1 н. раствора NaOH.

Определите вес раствора с тарой и доведите вес раствора до 500,0±0,1 г посредством добавления дополнительного носителя в смесительную емкость. Плотность=1,00 г/мл.

Перемешивайте конечный раствор в течение дополнительных 5 мин.

Определите pH конечного раствора.

Пропустите весь раствор через 0,22 мкм ПВДФ фильтр Stericup в стерильную сборную емкость.

Проведите следующее в ламинарном вытяжном шкафу; заполните 10 мл стерильные пробирки 10 мл раствора, укупорьте стерильной пробкой Flurotec и обожмите резиновой пробкой с алюминиевым колпачком.

Разместите пробирки в камерах для исследования стабильности при 40°C/75%ОВ и 25°C/60%ОВ. Метод ВЭЖХ по примеру 3 для контроля степени чистоты и примесей.

Пример 9. Проведение экспериментального исследования по стабилизации пирофосфатных ионов.

Составы, использованные для проведения экспериментального исследования, приведены в табл. 11. Оценка стабильности при высокой температуре 60°C демонстрирует, что добавление очень малых количеств пирофосфатных ионов, в том числе всего лишь ~0,25 молярного эквивалента по отношению к присутствующему (R,R)-пиро-DACH-2, приводит к резкому снижению общей скорости распада (R,R)-пиро-DACH-2 и появления примесей. В частности, данные показывают, что пирофосфатный ион приводит к постепенному исчезновению нескольких примесей, первоначально присутствующих в водном растворе, возникающих в результате примесей в (R,R)-пиро-DACH-2 или тех, которые образуются в процессе приготовления раствора. В частности, присутствие пирофосфата приводит к быстрому исчезновению примеси димера (R,R)-пиро-DACH-2 и примеси RRT~3,1-3,2.

Таблица 11. Приготовление экспериментальных составов пирофосфата (R,R)-пиро-DACH-2

№ состава	Концентрация фосфата	Концентрация пирофосфата	pH
1	10 мМ	10,305 мМ	6,5
2	10 мМ	10,305 мМ	7,5
3	отсутствует	10,305 мМ	7,5
4	отсутствует	10,305 мМ	6,5
5	10 мМ	5,153 мМ	6,5
6	10 мМ	5,153 мМ	7,5
7	отсутствует	5,153 мМ	7,5
8	отсутствует	5,153 мМ	6,5
9	10 мМ	отсутствует	6,5
10	10 мМ	отсутствует	7,5
11	10 мМ	1,0305 мМ	6,5
12	10 мМ	1,0305 мМ	7,5
13	10 мМ	2,577 мМ	7,5
14	отсутствует	5,135 мМ	8,5

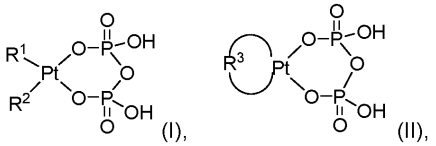
Пример 10. Готовый к применению водный состав (R,R)-пиро-DACH-2 (5 мг/мл (R,R)-пиро-DACH-2 в 10 мМ фосфатном буфере при pH 7), разлитый в 10 мл флаконы.

В аналитический стакан емкостью 36 мл, оборудованный механической мешалкой, добавили 24645,5 г стерильной воды для инъекций. При перемешивании добавили 47,03 г двухосновного фосфата калия USP до растворения твердых веществ. К перемешиваемому раствору добавили 253,8 г 1,00 н. раствора гидроксида калия. В качестве ополаскивателя для облегчения обоих добавлений использовали стерильную воду для инъекций USP (900,0 г). При интенсивном перемешивании медленно добавляли (R,R)-пиро-DACH-2 (201,87 г) и продолжали перемешивание до растворения всех твердых веществ. В качестве ополаскивателя для облегчения добавления использовали стерильную воду для инъекций USP (900,0 г). Определили, что значение pH составляет 6,7. В 5,0 мл аликвоты добавили 85 мл 1,00 н. раствора гидроксида калия, чтобы довести уровень pH до 7,3. Раствор отфильтровали в стерильных условиях через 0,22 мкм фильтр Millipore Millipack и асептически доверху залили 10 мл в 10 мл чистый литой флакон Wheaton объемом 10 куб. см, закрытый 20 мм пробкой и обжатый колпачком.

Предыдущие примеры и описание конкретных предпочтительных вариантов осуществления изобретения следует рассматривать в качестве иллюстративных, а не как ограничивающие данное изобретение. Специалистам в данной области техники следует иметь в виду, что многочисленные варианты и комбинации вышеописанных признаков могут быть использованы без отступления от сущности данного изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Стерильный жидкий фармацевтический состав для лечения рака, содержащий фосфаплатиновое соединение формулы (I) или (II)



или его соль, и водный фосфатный или бикарбонатный/карбонатный буферный раствор, имеющий pH 7 или выше, где R^1 и R^2 в формуле (I) каждый независимо выбран из метиламина, этиламина, пропиламина, изопропиламина, бутиламина, циклогексанамина, анилина и пиридина; и R^3 в формуле (II) выбран из этилендиамина и циклогександиамина, где водный буфер содержит пирофосфатную соль.

2. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.1, отличающийся тем, что концентрация фосфаплатинового соединения составляет 20 мг/мл или менее.

3. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.1 или 2, отличающийся тем, что концентрация фосфаплатинового соединения находится в интервале между 1 и 10 мг/мл.

4. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.2, отличающийся тем, что концентрация фосфаплатинового соединения находится в интервале между 1 и 6 мг/мл.

5. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.2, отличающийся тем, что концентрация фосфаплатинового соединения составляет 5 мг/мл.

6. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что пирофосфатная соль представляет собой пирофосфатную соль натрия.

7. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.1, отличающийся тем, что концентрация буферной соли находится в интервале между 1 и 100 мМ.

8. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.7, отличающийся тем, что концентрация буферной соли находится в интервале между 5 и 50 мМ.

9. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.7, отличающийся тем, что концентрация буферной соли составляет 10 мМ.

10. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что pH находится в диапазоне от 7,0 до 9,0.

11. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.10, отличающийся тем, что уровень pH находится в диапазоне 7,0-8,0.

12. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.1, отличающийся тем, что буфер представляет собой натриевую или калиевую соль.

13. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.12, отличающийся тем, что буфер представляет собой фосфат калия; концентрация фосфаплатинового соединения составляет 5 мг/мл и pH находится в интервале между 7,0 и 8,0.

14. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.13, отличающийся тем, что концентрация буфера составляет 10 мМ.

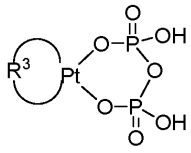
15. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.14, отличающийся тем, что молярное соотношение пирофосфатного аниона к фосфаплатиновому соединению составляет, по меньшей мере, от 0,1 до 1.

16. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.15, отличающийся тем, что молярное соотношение пирофосфатного иона к фосфаплатиновому соединению составляет от 0,2 до 1.

17. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.15, отличающийся тем, что молярное соотношение пирофосфатного иона к фосфаплатиновому соединению составляет от 0,4 до 1.

18. Стерильный жидкий фармацевтический состав по п.1, отличающийся тем, что концентрация фосфаплатинового соединения составляет 5 мг/мл, концентрация пирофосфата составляет 5,2 мМ, а pH находится в диапазоне от 7,0 до 8,0.

19. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-18, отличающийся тем, что фосфаплатиновое соединение представляет собой пирофосфатный комплекс платины (II), имеющий формулу (II)



(II),

или его соль, где R^3 представляет собой 1,2-циклогександиамин.

20. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-19, отличающийся тем, что фосфаплатиновое соединение представляет собой комплекс транс-1,2-циклогександиамин(дигидропирофосфат)платина(II), ("транс-пиро-DACH-2").

21. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-20, отличающийся тем, что фосфаплатиновое соединение представляет собой (R,R)-транс-1,2-циклогександиамин(дигидропирофосфат)платину(II) ("(R,R)-транс-пиро-DACH-2").

22. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-20, отличающийся тем, что фосфаплатиновое соединение представляет собой (S,S)-транс-1,2-циклогександиамин(дигидропирофосфат)платину(II), ("(S,S)-транс-пиро-DACH-2").

23. Стерильный жидкий фармацевтический состав по любому из пп.1-19, отличающийся тем, что фосфаплатиновое соединение представляет собой цис-1,2-циклогександиамин(дигидропирофосфат)платину(II) ("цис-пиро-DACH-2").

24. Способ лечения рака, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества стерильного жидкого фармацевтического состава по любому из пп.1-23.

25. Способ по п.24, где рак выбран из группы, состоящей из: гинекологических раковых заболева-

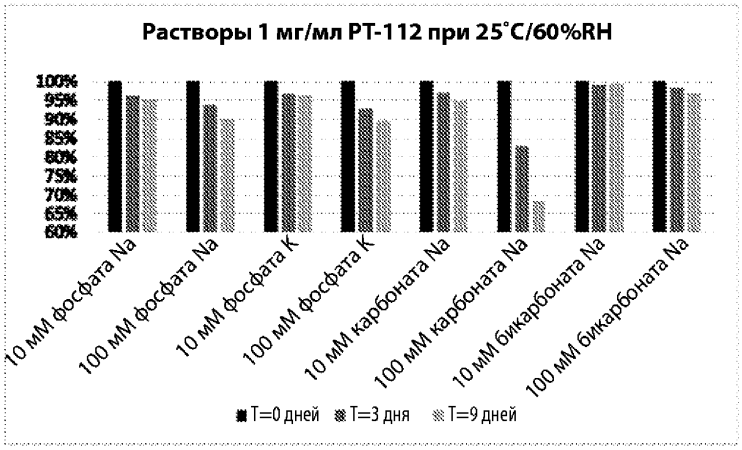
ний, онкологических заболеваний мочеполовой системы, онкологических заболеваний легких, онкологических заболеваний головы и шеи, онкологических заболеваний кожи, онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта, онкологических заболеваний молочной железы, онкологических заболеваний костей и хондроитиновых онкологических заболеваний, а также гематологических онкологических заболеваний.

26. Способ получения стерильного жидкого фармацевтического состава фосфаплатинового соединения по любому из пп.1-23, включающий: a) растворение фосфаплатинового соединения в водном фосфатном или бикарбонатном/карбонатном буфере, содержащем пирофосфатную соль, с получением раствора, так чтобы pH оставался 7 или выше; b) добавление гидроксидного основания к указанному раствору для доведения pH до от 7,0 до 9,0; и c) фильтрование раствора в стерильных условиях с получением указанного жидкого состава.

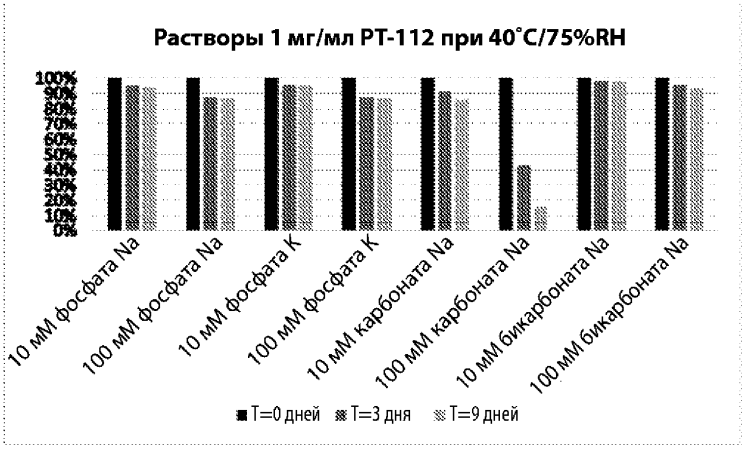
27. Способ по п.26, отличающийся тем, что пирофосфатная соль представляет собой пирофосфатную соль натрия.

28. Способ по любому из пп.26 или 27, где пирофосфатная соль представляет собой пирофосфатную соль натрия в молярном соотношении к фосфаплатиновому соединению в диапазоне от 0,1 до 1.

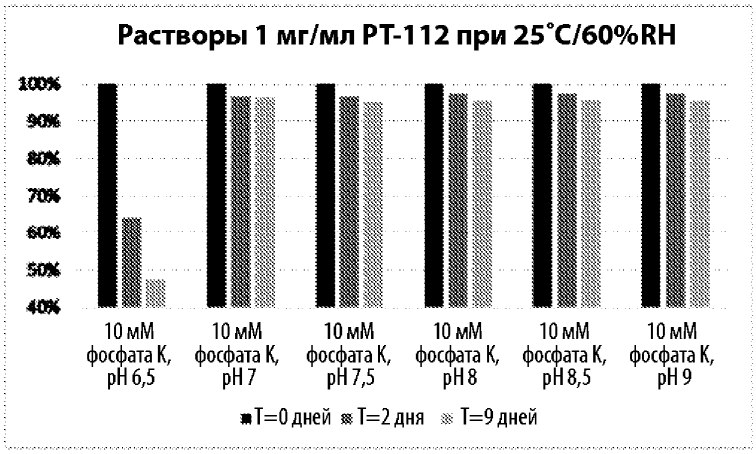
29. Способ по любому из пп.26-28, дополнительно включающий в себя d) заливку раствора во флакон, закрывание пробкой и укупоривание флакона в стерильной среде таким образом, чтобы состав был готов к применению.



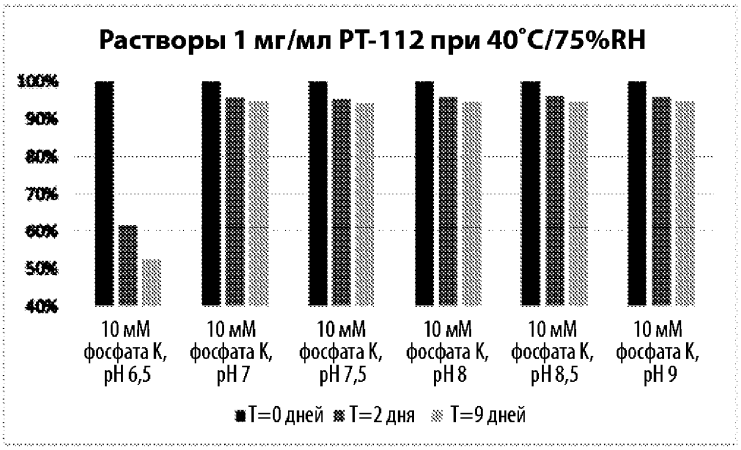
Фиг. 1



Фиг. 2


Растворы 1 мг/мл PT-112 при 25°C/60%RH
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
10 мМ фосфата К, pH 6,5
10 мМ фосфата К, pH 7
10 мМ фосфата К, pH 7,5
10 мМ фосфата К, pH 8
10 мМ фосфата К, pH 8,5
10 мМ фосфата К, pH 9
T=0 дней
T=2 дня
T=9 дней

Фиг. 3


Растворы 1 мг/мл PT-112 при 40°C/75%RH
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
10 мМ фосфата К, pH 6,5
10 мМ фосфата К, pH 7
10 мМ фосфата К, pH 7,5
10 мМ фосфата К, pH 8
10 мМ фосфата К, pH 8,5
10 мМ фосфата К, pH 9
T=0 дней
T=2 дня
T=9 дней

Фиг. 4