

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292947 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.05

(22) Дата подачи заявки
2021.04.15

(51) Int. Cl. A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 31/4995 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ТРАБЕКТЕДИН И АМИНОКИСЛОТУ

(31) 20169567.3

(32) 2020.04.15

(33) EP

(86) PCT/EP2021/059772

(87) WO 2021/209545 2021.10.21

(71) Заявитель:
ЭВЕР ВАЛИНДЖЕКТ ГМБХ (AT)

(72) Изобретатель:
Ахлейтнер Мария-Лена, Геволф
Николаус, Шнайт Хайнц (AT)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к стабильной фармацевтической композиции, содержащей трабектедин. В настоящем изобретении также предлагается лиофилизированный препарат и раствор для внутривенных инъекций, содержащие трабектедин и аминокислоту.

A1

202292947

202292947

A1

КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ТРАБЕКТЕДИН И АМИНОКИСЛОТУ

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к композиции, лиофилизированному препарату и внутривенной инъекции, содержащей трабектедин и аминокислоту.

Уровень техники

Трабектедин (эктеинасцидин или ET-743) представляет собой тетрагидроизохинолиновый алкалоид, который первоначально был выделен из морских оболочников *Ecteinascidia turbinata* и обладает противоопухолевой активностью.

Трабектедин характеризуется ограниченной растворимостью в воде и термической стабильностью, что представляет собой проблему при разработке препаратов для медицинских целей. Особенно эффективен трабектедин при лечении саркомы и рака яичников.

WO 2000069441 раскрывает использование трабектедина в приготовлении фармацевтической композиции для лечения рака у людей. Фармацевтическую композицию готовят в виде лиофилизированного продукта, содержащего маннит в качестве объемообразующего средства и фосфатный буфер при pH 4 для стабилизации трабектедина. Препарат вводят в виде внутривенной инфузии.

WO 2006046079 раскрывает информацию о том, что дисахариды стабилизируют препараты эктеинасцидина. WO 2006046079 описывает композицию, содержащую эктеинасцидин, такой как ET-743, и дисахарид, такой как сахароза, которую лиофилизируют и восстанавливают для получения препарата для внутривенной инфузии.

В настоящее время трабектедин готовят в виде стерильного лиофилизированного продукта, поставляемого во флаконе, содержащем 0,25 мг трабектедина, 100 мг сахарозы и 2 мг калия в форме дигидрофосфата калия, а также гидроксид калия и фосфорную кислоту для регулирования pH.

WO 2017133544A1 относится к препаратам стабилизированного трабектедина, которые могут содержать глюкозу в качестве первого вспомогательного вещества и гидроксипропилкрахмал, декстран, карбоксиметилцеллюлозу натрия или гидроксипропилбетациклодекстрин в качестве второго вспомогательного вещества.

В IN201741041173 раскрывается стабильная фармацевтическая композиция трабектедина. Примером является препарат, содержащий трабектедин и L-аргинин в соотношении 1:400. Такое большое количество аминокислоты приводит к большому объему раствора для лиофилизации и, следовательно, к более продолжительным циклам

сушки. Кроме того, большое количество вспомогательных компонентов может привести к негативным последствиям для пациентов.

Ввиду важности трабектедина в качестве химиотерапевтического средства все еще существует потребность в усовершенствованных препаратах трабектедина, которые являются биосовместимыми, стабильными и пригодными для медицинских целей.

Сущность изобретения

Задачей настоящего изобретения является предоставление стабильного препарата трабектедина, пригодного для медицинских целей.

Задача решается заявляемым объектом патентования и раскрывается в настоящем документе.

В настоящем изобретении предлагается композиция, содержащая трабектедин и по меньшей мере одну аминокислоту, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:10 до 1:250.

В соответствии с одним воплощением аминокислота выбрана из группы, состоящей из аргинина, гистидина, лизина, фенилаланина и изолейцина, метионина, ацетилцистеина, цистеина, цитруллина или любой их комбинации.

В соответствии с одним воплощением аминокислота представляет собой L-аргинин.

В соответствии с одним воплощением массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:10 до 1:250, или от 1:50 до 1:100, или около 1:70.

В соответствии с одним аспектом композиция, описанная в настоящем документе, содержит буферный агент. Буферный агент может быть выбран из группы, состоящей из лимонной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, основной аминокислоты и гидроксида натрия или любой их смеси, или смеси лимонной кислоты, фосфорной кислоты и возможно основной аминокислоты.

В соответствии с одним аспектом описанная здесь композиция содержит дополнительные вещества, выбранные из группы, содержащей комплексообразующее средство, такое как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); антиоксидант, такой как монотиоглицерин; поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат, маннит и аскорбиновую кислоту.

В препарате по изобретению основным средством регулирования pH является буферный агент. Как правило, буферный агент присутствует в виде кислоты или основания и сопряженного основания или кислоты соответственно. В соответствии с одним воплощением диапазон содержания соли буфера составляет 1-100 мМ,

предпочтительно 5-50 мМ, наиболее предпочтительно около 10 мМ (в твердых лекарственных формах количество буфера выбирают для достижения этой концентрации после восстановления/растворения). Концентрацию буфера и pH раствора предпочтительно выбирают для достижения оптимального баланса растворимости и стабильности. Примеры подходящих буферов включают смеси солей слабых кислот и щелочных металлов (например, натрия, калия) собой сопряженного основания слабой кислоты, такие как цитрат натрия и динатрия гидрофосфат.

В соответствии с одним воплощением, композиция находится в форме лиофилизированного препарата. Таким образом, в настоящем изобретении также предлагается лиофилизированный препарат, содержащий трабектедин, по меньшей мере, одну аминокислоту, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:10 до 1:250. В соответствии с дополнительным аспектом, аминокислота выбрана из группы, состоящей из аргинина, гистидина, лизина, фенилаланина и изолейцина, метионина, ацетилцистеина, цистеина, цитруллина или любой их комбинации. В соответствии с конкретным воплощением аминокислота представляет собой L-аргинин. В соответствии с дополнительным воплощением лиофилизированный препарат содержит трабектедин, и массовое соотношение (мас./мас.) к аминокислоте составляет от 1:50 до 1:100 или около 1:70. В соответствии с конкретным воплощением массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет около 1:70.

В соответствии с дополнительным воплощением лиофилизированный препарат содержит буферный агент.

В соответствии с одним аспектом аминокислота в лиофилизированном препарате представляет собой L-аргинин, а буферный агент представляет собой лимонную кислоту или фосфорную кислоту или их смесь.

В соответствии с другим аспектом лиофилизированный препарат предоставляется во флаконе. В соответствии с типичным воплощением флакон содержит от 0,1 до 1 мг трабектедина, от 10 до 60 мг L-аргинина, от 0,5 до 8 мг лимонной кислоты, от 5 до 40 мг фосфорной кислоты. В соответствии со специфическим воплощением флакон содержит 0,25 мг трабектедина, 17,4 мг L-аргинина, 1,9 мг лимонной кислоты и 10-15 мг фосфорной кислоты.

Лиофилизированный препарат удобен для приготовления раствора для внутривенных инфузий путем восстановления в водной среде. Таким образом, в изобретении дополнительно предлагается раствор для внутривенных инфузий, содержащий трабектедин, аминокислоту, буферный агент и воду для инъекций.

В соответствии с одним аспектом раствор для внутривенных инфузий используется при лечении рака. Рак, подлежащий лечению, может представлять собой саркому, выбранную из группы, состоящей из лейомиосаркомы, липосаркомы, остеосаркомы, рака яичников, рака молочной железы, меланомы, колоректального рака, мезотелиомы, рака почки, рака эндометрия и рака легкого или любой их комбинации.

В соответствии с дополнительным воплощением описанная здесь внутривенная инфузия используется для лечения взрослых пациентов с распространенной саркомой мягких тканей.

В соответствии с одним воплощением раствор для внутривенной инфузии используют для лечения пациентов с рецидивом чувствительного к платине рака яичников. Лечение может проводиться в сочетании с пегилированным (от слова «ПЭГ») липосомальным доксорубицином (PLD).

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - чистота образцов для изучения краткосрочной стабильности, хранившихся при температуре 5°C (вверху) и 22°C (внизу) до 29 часов.

Фиг. 2 - стабильность лиофилизатов при 2-8°C: содержание трабектедина (A285 нм), определенное методом ОФ-ВЭЖХ в процентах от стандарта (0,25 мг/мл).

Фиг. 3 - стабильность лиофилизатов при 2-8°C: чистота образцов, выраженная в виде относительной площади пика трабектедина, определенной методом ОФ-ВЭЖХ (A285 нм).

Раскрытие изобретения

Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей трабектедин и по меньшей мере одну аминокислоту. Препарат содержит трабектедин в качестве активного вещества и может быть приготовлен в виде лиофилизированного препарата, который может быть восстановлен для получения раствора для внутривенной инфузии.

В контексте настоящего изобретения трабектедин может иметь природное, полусинтетическое или синтетическое происхождение, включая комбинированное происхождение.

В известных препаратах трабектедина используют сахараиды (например, WO 2017133544 A1) для стабилизации препарата. Однако при использовании в лекарственных препаратах сахараиды могут проявлять несколько неблагоприятных свойств. Прежде всего, глюкозу и сахарозу нельзя назначать больным диабетом без учета дополнительного потребления углеводов. Больные диабетом должны контролировать потребление углеводов, генерирующих глюкозу, и принимать сахароснижающие препараты, чтобы поддерживать уровень глюкозы в крови в определенных пределах. Таким образом,

лекарственная форма, содержащая глюкозу или сахарозу, не является оптимальной для этой конкретной группы пациентов.

Кроме того, сахараиды также являются источником специфического возможного продукта разложения трабектедина. Все сахараиды, которые могут образовывать в растворе полуацетальную структуру (т.е. все «восстанавливающие» сахара) могут взаимодействовать с гидроксильными группами с образованием стабильного ацетала и воды (Jerry March, *Advanced Organic Chemistry*, 3-е издание. Страницы 789 – 790; John Wiley & Sons). Продукты реакции, ацеталь и вода, находятся в равновесии с лекарственным веществом, например, трабектедином, и его гидроксильной группой. При удалении воды (например, после лиофильной сушки) равновесие смещается далеко в сторону ацетала, что приводит к образованию этого продукта реакции в заметных количествах.

Трабектедин, в структуре которого присутствует такая гидроксильная группа, таким образом, склонен к образованию ацеталей с восстанавливающими сахарами, такими как глюкоза или лактоза, во время лиофильной сушки.

Этот специфический механизм разложения наблюдали для лиофилизированных препаратов трабектедина, содержащих глюкозу. При лиофилизации таких препаратов наблюдали образование ацетала трабектедина-глюкозы. Хотя этот ацеталь гидролизуетсся при восстановлении лиофилизата, он все еще присутствует в восстановленном растворе в течение нескольких часов (например, с относительными уровнями около 0,5% через 6 часов). Его можно обнаружить при помощи ВЭЖХ. Используемый метод ВЭЖХ идентичен описанному здесь в разделе скрининга препарата. Разложение в конечном итоге приводит к достижению равновесия с достаточно низкими, но все же обнаруживаемыми уровнями примеси ацетала. Применение лекарственного препарата, который содержит продукт разложения с неизвестными токсикологическими свойствами, у пациентов может быть проблематичным с токсикологической точки зрения, а также с точки зрения точности дозы, поскольку часть дозы трабектедина теряется в ацетале и недоступна для терапии.

Этот побочный эффект препаратов трабектедина, содержащих восстанавливающие сахара (например, глюкозу или лактозу), можно преодолеть, просто подождав после приготовления раствора для инфузии, пока большая часть ацетала не гидролизуетсся, прежде чем начинать инфузию. Однако в больничной практике это трудоемкая и нежелательная процедура, которой следует избегать. Таким образом, предпочтительным является препарат, в котором не наблюдается такого рода продуктов разложения.

Кроме того, в препаратах, раскрываемых в IN201741041173, для приготовления стабильной фармацевтической композиции трабектедина преимущественно используются моносахариды в сочетании с сахарными спиртами. Альтернативно, в качестве вспомогательного вещества также можно использовать аминокислоты. Примером является препарат, содержащий трабектедин и L-аргинин в соотношении 1:400.

Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что даже небольшие количества аминокислот стабилизируют композиции трабектедина без образования продуктов разложения трабектедина. В данном контексте термин «стабильность» соответствует определению Рабочей группы по разработке фармацевтических процессов (APV), в соответствии с которым «стабильность» означает качество лекарственного препарата, установленное до окончания срока, указанного производителем. Качество препарата определяется содержанием активного вещества и чистотой, органолептическими, физико-химическими и микробиологическими свойствами, при этом содержание активного вещества не должно опускаться ниже 90% от заявленного к концу срока.

Препарат, получаемый в соответствии с изобретением, характеризуется стабильностью (или, иными словами, сроком годности или временем действия) по меньшей мере 3 месяца, предпочтительно по меньшей мере 6 месяцев, более предпочтительно по меньшей мере 12 месяцев, еще более предпочтительно по меньшей мере 24 месяца, при температуре от 2 до 8°C и наиболее предпочтительно по меньшей мере 36 месяцев, причем содержание трабектедина к концу срока не падает ниже 90%, предпочтительно 95% от первоначально использованного трабектедина.

Термин «аминокислота» относится к природным аминокислотам, включая протеиногенные и непротеиногенные аминокислоты, синтетические аминокислоты и аналоги аминокислот, все в форме D- и L-стереоизомеров, если их структура допускает такие стереоизомерные формы. Аминокислоты включают неполярные, полярные, основные и кислые аминокислоты. Неполярными протеиногенными аминокислотами являются глицин (Gly), аланин (Ala), валин (Val), лейцин (Leu), изолейцин (Ile), пролин (Pro), триптофан (Trp), фенилаланин (Phe) и метионин (Met). Полярные протеиногенные аминокислоты включают серин (Ser), треонин (Thr), тирозин (Tyr), аспарагин (Asn), глутамин (Gln) и цистеин (Cys). Основные протеиногенные аминокислоты включают аргинин (Arg), гистидин (His) и лизин (Lys). Кислые протеиногенные аминокислоты включают аспарагиновую кислоту (Asp) и глутаминовую кислоту (Glu). Синтетические аминокислоты включают ацетилцистеин. Непротеиногенные аминокислоты включают цитруллин.

В контексте настоящего изобретения аминокислота может быть неполярной, полярной, основной или кислой аминокислотой или любой их комбинацией. В соответствии с одним воплощением, аминокислота выбрана из группы неполярных протеиногенных аминокислот, в частности, L-фенилаланина или L-изолейцина или любой их комбинации.

В соответствии с дополнительным воплощением аминокислота выбрана из группы основных аминокислот, таких как L-аргинин, L-лизин или L-гистидин. В частности, аминокислота представляет собой L-аргинин. В соответствии с одним аспектом L-аргинин можно объединить с одной или несколькими дополнительными аминокислотами, такими как, например, L-фенилаланин или L-изолейцин.

В соответствии с другим воплощением аминокислота представляет собой цитруллин. В соответствии с еще одним воплощением, аминокислота представляет собой ацетилцистеин.

Отношение трабектедина к аминокислоте в воплощениях, описанных в настоящем документе, определяют в соответствии с растворимостью аминокислоты, а в случае лиофильной сушки также в соответствии со способностью аминокислоты к лиофильной сушке. Массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте (мас./мас.) может составлять около 1:5, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80, 1:90, 1:100, 1:150, 1:200 или 1:250. В соответствии с некоторыми воплощениями массовое соотношение находится в диапазоне от 1:10 до 1:250 или в диапазоне от 1:50 до 1:100. В соответствии со специфическим воплощением, массовое соотношение составляет около 1:70.

Используемый здесь термин «около» означает, что значение находится в диапазоне +/- 10% от указанного значения.

В соответствии со специфическим аспектом композиция, описанная в настоящем документе, дополнительно содержит буферный агент. Буферный агент позволяет поддерживать pH системы в диапазоне, который способствует стабильности трабектедина. Обычно pH находится в диапазоне от pH 2 до pH 5. Подходящими буферами являются, например, цитратный буфер, фосфатный буфер, цитратно-фосфатный буфер, лактатный буфер, аскорбатный буфер, тартрат/цитратный буфер, буфер гидрокарбонат/хлористоводородная кислота, ацетатный буфер. или буфер уксусной кислоты, сукцинатный буфер, буфер глицин/хлористоводородная кислота. В соответствии с некоторыми воплощениями могут использоваться буферы на основе аминокислот, такие как буферы на основе аминокислот, уже присутствующих в композиции. Также можно использовать смеси указанных буферных агентов.

В соответствии с одним воплощением буферный агент выбран из группы, состоящей из лимонной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, основной аминокислоты и гидроксида натрия или любой их смеси. В соответствии с дополнительным воплощением буферный агент представляет собой смесь лимонной кислоты и фосфорной кислоты (цитратно/фосфатный буфер). В частности, цитратно/фосфатный буфер может дополнительно содержать основную аминокислоту, такую как L-аргинин, в качестве буферного агента. Кроме того, для регулирования pH можно использовать гидроксид натрия.

В композицию могут быть включены другие компоненты, например комплексообразователь, такой как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); антиоксидант, такой как монотиоглицерин; поверхностно-активное вещество; маннитол; и аскорбиновая кислота. Примеры поверхностно-активных веществ включают полисорбат, полиоксиэтилен(20)сорбитанмоноолеат или полиоксилстеарат, фосфолипиды, такие как лецитин; сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена, такие как поверхностно-активное вещество Pluronic; сложные эфиры полиоксиэтилена и 12-гидроксистеариновой кислоты, такие как поверхностно-активное вещество Solutol; этоксилаты холестерина, такие как диацилглицерин, диалкилглицерин; соли желчных кислот, такие как холат натрия, дезоксихолат натрия; сложные эфиры сахарозы, такие как монолаурат сахарозы, моноолеат сахарозы; поливинилпирролидон (ПВП); или поливиниловый спирт (ПВС).

Описанная здесь композиция может быть в форме лиофилизированного препарата. Термин «лиофилизированный препарат» здесь означает препарат, полученный путем лиофилизации (сушки вымораживанием) смеси, содержащей фармацевтически эффективное количество трабектедина. Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что использование одной или нескольких аминокислот в качестве объемообразующего средства в процессе лиофилизации улучшает условия хранения и обеспечивает долгосрочное хранение лиофилизированного препарата в широком диапазоне температур, включая условия охлаждения и комнатную температуру.

Таким образом, в настоящем изобретении предлагается лиофилизированный препарат, содержащий трабектедин, по меньшей мере, одну аминокислоту, буферный агент и возможно объемообразующее средство, такое как маннит. В качестве объемообразующего средства может использоваться аминокислота.

Термин «объемообразующее средство» здесь означает соединение, которое увеличивает массу лиофилизированной (высушенной вымораживанием) смеси и вносит вклад в физическую структуру лиофилизата (например, способствует получению фактически однородной лиофилизированной массы, сохраняющей открытую пористую

структуру). В дополнение к получению фармацевтически элегантной формы осадка объемообразующие средства могут также придавать ему полезные свойства в отношении изменения температуры разрушения, обеспечения защиты при замораживании и размораживании и повышения стабильности при долгосрочном хранении. Примеры объемообразующих средств включают маннит, глицин, лактозу, сахарозу, декстрозу и гидроксипропилкрахмал. Объемообразующие средства могут быть кристаллическими (такими как глицин или маннит) или аморфными (такими как декстран или гидроксипропилкрахмал).

В соответствии со специфическим воплощением аминокислота в лиофилизированном препарате, описанном в настоящем документе, представляет собой неполярную, полярную, основную или кислую аминокислоту или любую их комбинацию. Аминокислота может представлять собой неполярную аминокислоту, такую как L-фенилаланин или L-изолейцин, или основную аминокислоту, например, L-аргинин, L-лизин или L-гистидин, или любую их комбинацию. В частности, аминокислота представляет собой L-аргинин. В соответствии с одним аспектом L-аргинин может быть объединен с одной или несколькими дополнительными аминокислотами, такими как L-фенилаланин или L-изолейцин. В соответствии с другим воплощением аминокислота представляет собой цитруллин. В соответствии с еще одним воплощением аминокислота представляет собой ацетилцистеин.

В соответствии с одним воплощением аминокислота в указанном лиофилизированном препарате представляет собой L-аргинин, а буферный агент представляет собой смесь лимонной кислоты и фосфорной кислоты (цитратно/фосфатный буфер). Аминокислота может вместе с основанием дополнительно действовать также как буферный агент.

Ллиофилизированный препарат по настоящему изобретению может быть приготовлен лиофильной сушкой описанной здесь композиции в форме раствора для лиофилизации. В настоящем документе описан способ приготовления лиофилизированного препарата, содержащий лиофильную сушку композиции в форме раствора для лиофилизации, где раствор для лиофилизации содержит трабектедин в концентрации от 0,1 до 1 мг/мл, L-аргинин в концентрации от 10 до 30 мг/мл, лимонную кислоту в концентрации от 0,5 до 4 мг/мл и фосфорную кислоту в концентрации от 5 до 20 мг/мл. pH раствора для лиофилизации находится в диапазоне от pH 2 до pH 5, специфически, в диапазоне от pH 4 до pH 5, более специфически pH составляет 4,8. Способ приготовления лиофилизированного препарата может дополнительно включать

доведение pH до указанного желаемого значения, например, путем добавления фосфорной кислоты и (или) гидроксида натрия.

В соответствии с одним аспектом лиофилизированный препарат предлагается во флаконе. В соответствии с одним воплощением флакон представляет собой литой стеклянный флакон или стеклянный флакон в виде пробирки. Однако настоящее изобретение не ограничивается конкретными формами или конструкциями контейнеров, если контейнер является приемлемым для предполагаемого использования и соответствует стандартам.

Лиофилизированный препарат обычно содержится во флаконе, который содержит определенное количество трабектедина. Количество трабектедина во флаконе составляет, например, 0,25 мг или 1 мг. Для получения флакона, содержащего лиофилизированный препарат, раствор для лиофилизации добавляют во флакон и лиофильно сушат. Объем раствора для лиофилизации, добавляемого во флакон, находится в диапазоне от 1 до 5 мл или от 1 до 4 мл.

В соответствии с одним воплощением флакон содержит от 0,1 до 1 мг трабектедина, например, 0,25 мг трабектедина, и от 10 до 30 мг L-аргинина, например, 17,4 мг L-аргинина, а также от 0,5 до 4 мг лимонной кислоты, например, 1,9 мг лимонной кислоты, и от 5 до 20 мг фосфорной кислоты или от 10 до 15 мг фосфорной кислоты.

Предоставление лиофилизированного препарата во флаконе обеспечивает простую транспортировку и обработку, а также прямое восстановление до препарата, который можно легко ввести нуждающемуся в этом пациенту.

Лиофилизированный препарат можно восстановить и разбавить для получения препарата в форме раствора, готового для внутривенной инъекции.

Термины «восстановить» или «восстановление» здесь означают процесс, посредством которого лиофилизированный препарат преобразуется в жидкую форму путем прибавления и смешивания с фармацевтически приемлемым водным раствором для восстановления, таким как вода для инъекций, раствор хлорида натрия или раствор глюкозы.

В описанном здесь изобретении предлагается раствор для внутривенной инфузии, содержащей трабектедин, аминокислоту, буферный агент и воду для инъекций. В изобретении дополнительно предлагается способ приготовления раствора для внутривенной инфузии, содержащий получение лиофилизированного препарата, восстановление указанного лиофилизированного препарата в водной системе и разбавление указанного восстановленного препарата водной средой для инфузии до концентрации, подходящей для внутривенной инфузии.

Фактические количества раствора для восстановления не являются ограничивающими признаками воплощений настоящего изобретения. В качестве иллюстрации, но не для ограничения, воплощения лиофилизированных препаратов по настоящему изобретению восстанавливают объемом воды. Большинство таких объемов не превышает около 20 мл, при этом предпочтительные объемы находятся в диапазоне от около 1 мл до около 15 мл, или в диапазоне от около 1 мл до около 10 мл, или около 5 мл. Восстановленный раствор в таких воплощениях содержит концентрацию трабектедина около 0,05 мг/мл, около 0,1 мг/мл или около 0,15 мг/мл.

Восстановленные растворы можно дополнительно разбавить, если это желательно. Это дополнительное разбавление можно проводить с помощью водной среды для инфузии, которая обычно представляет собой 0,9% хлорид натрия или 5% глюкозу. Восстановленный раствор следует разбавлять в зависимости от концентрации в восстановленном растворе и желаемой концентрации в разбавленном растворе.

В соответствии с одним аспектом внутривенную инфузию применяют при лечении рака. В соответствии с одним аспектом рак представляет собой саркому, выбранную из группы лейомиосаркомы, липосаркомы, остеосаркомы; рака яичников, рака молочной железы, меланомы, колоректального рака, мезотелиомы, рака почки, рака эндометрия и рака легкого или любой их комбинации, а также заболевания с несколькими такими формами рака. Следует понимать, что «лечение» в данном контексте относится к действию, которое приводит к улучшению состояния(ий) рака. Воплощения композиций по изобретению могут также быть использованы для лечения рефрактерных заболеваний рака, которые не поддавались положительному ответу на другие виды лечения. В соответствии с одним воплощением внутривенную инфузию применяют для лечения взрослых пациентов с распространенной саркомой мягких тканей.

Трабектедин можно использовать совместно с другим лекарственным средством. Например, его можно вводить с другим противоопухолевым препаратом. Примеры таких других лекарственных средств включают доксорубицин, цисплатин, паклитаксел, карбоплатин, пегилированный липосомальный доксорубицин, доцетаксел, капецитабин и гемцитабин. Можно использовать лекарства с другими механизмами действия, включая дексаметазон. Введение другого лекарства может быть до, во время или после введения трабектедина.

В соответствии с другим воплощением внутривенную инфузию, описанную в настоящем документе, используют для лечения пациентов с рецидивом чувствительного к платине рака яичников, где лечение проводится в комбинации с пегилированным липосомальным доксорубицином (PLD).

В частности, описанный в настоящем документе раствор для внутривенной инфузии вводят внутривенно на циклической основе, например, от 1 до 20 циклов. Цикл включает фазу инфузии трабектедина и обычно также фазу отсутствия инфузии трабектедина. Как правило, цикл разработан по неделям, и, таким образом, цикл обычно содержит одну или несколько недель фазы инфузии трабектедина и одну или несколько недель для завершения цикла. Предпочтителен цикл продолжительностью 3 недели, но в качестве альтернативы он может составлять от 1 до 6 недель. Фаза инфузии сама по себе может представлять собой однократное введение в каждом цикле продолжительностью, например, от 1 до 72 часов, чаще около 1, 3 или 24 часов; или инфузию ежедневно в фазе инфузии цикла в течение 1-5 ч, в особенности 1 или 3 ч; или инфузию еженедельно в фазе инфузии цикла в течение 1-3 часов, в особенности 2 или 3 часа. Предпочтительно однократное введение в начале каждого цикла. В частности, продолжительность инфузии составляет около 1, 3 или 24 часов.

Типовые протоколы дозирования для внутривенного введения препаратов трабектедина описаны, например, в WO 2006046079. Такие протоколы дозирования включают:

- а) около $1,5 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела, в форме внутривенной инфузии в течение 24 ч с трехнедельным интервалом между циклами;
- б) около $1,3 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела, в форме внутривенной инфузии в течение 3 ч с трехнедельным интервалом между циклами;
- с) около $0,580 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела, еженедельно в форме внутривенной инфузии в течение 3 ч в течение 3 недель и 1 недели перерыва.

Примеры

Следующие далее примеры изложены для помощи в понимании изобретения, но не предназначены и не должны толковаться как ограничивающие объем изобретения каким-либо образом. Примеры не включают подробное описание обычных способов, например количественного определения с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Такие способы хорошо известны специалистам в данной области техники.

Пример 1. Варианты состава препарата

Были предоставлены варианты состава препарата трабектедина, показанные в таблице 1. Использовали разные объемообразующие средства. Например, «0,1 М Arg» означает L-аргинин в концентрации 0,1 моль/л.

#	Объемообразующее средство	Буфер	Способ регулирования pH	pH
1	0,1 М Arg, 0,1 М Phe	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,8
2	0,1 М Arg, 0,1 М Ile	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,8
3	0,1 М Arg	10 мМ лимонной кислоты	L-аспарагиновая кислота	4,8
4	0,1 М Arg	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,8
5	0,1 М Arg	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	3,8
6	0,1 М Arg	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	3,4
7	0,1 М Arg	10 мМ лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	3,0
8	0,1 М Arg, 0,1 М Phe	10 мМ лимонной кислоты	NaOH	3,0
9	0,1 М Arg, 0,1 М Phe	10 мМ лимонной кислоты	NaOH	3,8

Пример 2. Краткосрочная стабильность растворов для лиофилизации

Всего было приготовлено 9 растворов для лиофилизации. Варианты состава препарата смешивали путем предварительного взвешивания примерно 10 мг трабектедина в стеклянном сосуде вместимостью 50 мл и прибавления расчетного количества растворителя для достижения целевой концентрации трабектедина 0,25 мг/мл. Растворы для лиофилизации перемешивали на роллерном смесителе в течение приблизительно 30 минут при комнатной температуре (22°C). Растворы фильтровали с использованием шприцевых фильтров 0,2 мкм (Millipore, мембрана Fluorodyne®II) и разливали (по 1 мл на флакон) в очищенные и депирогенизированные стеклянные флаконы 10R.

Стабильность жидких препаратов трабектедина (0,25 мг/мл) исследовали в краткосрочном (0 ч и 24 ч) эксперименте по определению стабильности при 2-8°C и 25°C. Некоторые различия в содержании трабектедина наблюдались с помощью анализа ОФ-ВЭЖХ (параметры см. в таблице 4) между различными вариантами препаратов, однако различия между образцами, подвергшимися стрессовому воздействию (24 часа, при 2-8°C или 25°C) и не подвергавшихся таковому (0 часов), были незначительными (см. таблицу 2). В таблице 2 показаны результаты анализа стабильности трабектедина. Содержание трабектедина, определенное с помощью ОФ-ВЭЖХ (детектирование при 285 нм), указано в процентах от стандарта. Чистоту анализируют как относительную площадь пика. Определены количества примесей, перечисленных в таблице 2. Количества определяли как относительную площадь пика в процентах. Большинство примесей были обнаружены лишь в незначительных количествах (таблица 2). Можно было наблюдать температурную зависимость стабильности трабектедина. Варианты низкого значения pH оказались значительно более стабильными по сравнению с их эквивалентами высокого pH.

Таблица 2. Результаты определений стабильности: содержание трабектедина и примесей по данным ВЭЖХ

[illegible]

	%	щадь	дь	щадь	адь	адь	адь	адь	адь	адь	адь	адь	адь
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
#1 0 ч.	100,6	99,83	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,17	< 0,1	0,98	< 0,1
#1 5°C 24 ч.	99,8	99,80	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,20	< 0,1	1,10	< 0,1
#1 25°C 24 ч.	100,1	99,57	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,43	< 0,1	2,31	< 0,1
#2 0 ч.	97,9	99,89	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,11	< 0,1	0,66	< 0,1
#2 5°C 24 ч.	97,3	99,89	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,11	< 0,1	0,71	< 0,1
#2 25°C 24 ч.	97,9	99,75	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,25	< 0,1	1,44	< 0,1
#3 0 ч.	97,6	99,85	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,15	< 0,1	0,89	< 0,1
#3 5°C 24 ч.	97,3	99,83	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,17	< 0,1	0,99	< 0,1
#3 25°C 24 ч.	97,6	99,62	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,38	< 0,1	2,22	< 0,1
#4 0 ч.	94,7	99,89	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,11	< 0,1	0,66	< 0,1
#4 5°C 24 ч.	94,4	99,88	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,12	< 0,1	0,72	< 0,1
#4 25°C 24 ч.	94,9	99,70	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,30	< 0,1	1,65	< 0,1
#8 0 ч.	100,9	100	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,17	< 0,1	< 0,1	< 0,1
#8 5°C 24 ч.	94,6	99,67	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,33	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,16	0,47	< 0,1	0,31
#8 25°C 24 ч.	95,6	99,29	0,13	0,23	< 0,1	0,35	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,3	1,13	< 0,1	0,79
#9 0 ч.	98,0	100	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,47	< 0,1	< 0,1	< 0,1
#9 5°C 24 ч.	89,6	98,98	0,17	0,11	< 0,1	0,61	< 0,1	< 0,1	0,13	0,71	2,07	< 0,1	1,53
#9 25°C 24 ч.	90,9	98,67	0,19	0,21	< 0,1	0,66	< 0,1	< 0,1	0,28	1,36	3,06	< 0,1	2,35

Пример 3. Лиофилизация

Заполненные флаконы закрывали пробками в положении для лиофилизации, загружали в лотки из нержавеющей стали и заворачивали в пакеты LyoProtect® (пакеты с паропроницаемой мембраной из ПТФЭ для предотвращения загрязнения лиофилизатора). Были использованы два опытных лиофилизатора (Hof Sonderanlagenbau, Lohra, Германия, GT2, площадь полок 0,36 м² и GF3, площадь полок 0,25 м²). Поскольку в одном цикле лиофилизации лиофилизировали несколько разных вариантов препарата (цикл 1: варианты препарата №№ 1–4, цикл 2: варианты препарата №№ 8–9), были выбраны общие консервативные параметры лиофилизации (таблица 3).

Таблица 3. Параметры лиофилизации

Этап		Температура полки	Температура ледового конденсатора	Давление	Продол- житель- ность
	Описание	[°C]	[°C]	[мбар]	[ч:мин]
1	Загрузка	20	-	1000	00:01
2	Продолжительность снижения температуры	-45	-	1000	01:05
3	Замораживание	-45	-	1000	01:00
4	Продолжительность повышения температуры для отжига	-20	-	1000	00:25
5	Отжиг	-20	-	1000	02:00

6	Продолжительность снижения температуры	-45	-	1000	00:25
7	Замораживание	-45	-	1000	02:00
8	Регулирование вакуума	-45	-70	0,05	00:30
9	Продолжительность изменения температуры для первичной сушки	-10	-70	0,05	01:00
10	Первичная сушка	-10	-70	0,05	xx:xx*
11	Вторичная сушка	30	-70	0,05	04:00
12	Вторичная сушка	30	-70	0,05	10:00

* Первичная сушка проходила в течение ночи без участия оператора. Зарегистрированное время сушки было в диапазоне от 14 до 16 часов. Отмечается, что для целей разработки процесса, вероятно, будет достаточно значительно более короткое время первичной сушки.

Все варианты препарата были пригодны для лиофилизации. Большая часть вариантов показала некоторое увеличение содержания примесей (особенно ОВУ 1,32 (A285 нм)) при лиофилизации, что свидетельствует о чувствительности трабектедина.

Чтобы дополнительно дифференцировать варианты препарата, стабильность лиофилизированных образцов всех вариантов препарата № 1–4 и № 8–9 оценили в исследовании стабильности в ускоренных условиях.

Пример 4. Исследование краткосрочной стабильности лиофилизированных образцов

Образцы, полученные при проведении лиофилизации, подвергали испытаниям на стабильность при трех температурах: 2-8°C, 25°C и 40°C. Образцы анализировали сразу после лиофилизации (T0), через один месяц (T1), через два месяца (T2), через три месяца (T3) и через 6 месяцев (T6) хранения в отношении внешнего вида, скорости восстановления, профиля разложения с помощью ОФ-ВЭЖХ и остаточного содержания воды с помощью общего метода Карла Фишера с использованием термостата (только T0).

Образцы каждого варианта препарата сохранили и проанализировали. Все варианты препарата образовывали твердые лиофилизированные массы, которые оставались визуально стабильными в течение всего периода испытаний. Восстановление в 1 мл воды для инъекций было быстрым и спонтанным в течение 10 секунд для всех вариантов во всех временных точках.

Содержание и чистота лиофилизатов

Восстановленные лиофилизаты анализировали ОФ-ВЭЖХ (параметры см. в таблице 4) для определения содержания трабектедина и профиля примесей. На фиг. 2 и фиг. 3 резюмированы результаты для хранения при 2-8°C.

Таблица 4. Параметры анализа ВЭЖХ

Параметр	Значение
Температура колонки	15°C
Температура пробоотборника	5°C
Длина волны	ДМД: 285 нм, 255 нм*
Создаваемый насосом поток	1,2 мл/мин
Продолжительность цикла	60 мин
Колонка	Phenyl 250 x 4,6 мм; 5 мкм; 80 Å (ZORBAX SB-Phenyl, Agilent – предел давления 400 бар)
Буфер А	А: 1 г формиата аммония + 1 мл муравьиной кислоты в 1 л воды
Буфер В	В: AcN
Градиент	0 мин: - 85% А - 15% В 30 мин: - 73% А - 27% В 50 мин: - 35% А - 65% В 52 мин: - 85% А - 15% В 60 мин: - 85% А - 15% В
Объем введения	20 мкл
Концентрация стандарта/образца	0,25 мг/мл
Разбавитель	Метанол

Препарат с L-аргинином в лимонной кислоте, содержащий H₃PO₄ для доведения pH до pH 4,8 (состав препарата №4, см. таблицу 1 и таблицу 5), показывает очень хорошие результаты стабильности даже при температуре хранения 40°C.

Таблица 5. Состав препарата #4 (100 мМ L-аргинина)

Компонент	Назначение	Количество в мг/мл
Трабектедин	Активное вещество	0.25
Лимонная кислота	Буферный агент	1.92
L-Аргинин	Объемообразующее средство	17.42
Фосфорная кислота (85% мас. в воде)	Буферный агент/ регулирование pH	В зависимости от желаемого pH, например, от 10 до 15 мг требуется для достижения pH 3.
NaOH	Буферный агент/ регулирование pH	Зависит от желаемого pH; используется для регулирования pH

Пример 5. Исследования стабильности продолжительностью 3 месяца

Три различных варианта препарата (аргинин-фосфат, pH 3,0, pH 3,4 и pH 3,8, см. таблицы 1 и 5) приготовили, лиофилизировали и проанализировали в отношении количественного определения и определения профиля примесей с течением времени.

Подробное описание эксперимента

Для исследований стабильности лиофилизированные образцы вариантов препарата трабектедина хранили при 2–8°C, 25°C и 30°C. Растворы плацебо без трабектедина хранили при 25°C и использовали в качестве стандартных образцов для анализа ВЭЖХ. Временные точки анализа – через 1 месяц, 3 месяца (см. таблицы 6 и 7).

Таблица 6. Примеси, обнаруженные при 285 нм через 3 месяца хранения при 2-8°C

Примеси	# 7 (Arg pH 3,0)	#6 (Arg pH 3,4)	#5 (Arg pH 3,8)
ОВУ 0,12 [%]	0,16	0,29	0,36
ОВУ 1,16 [%]	0,23	0,46	0,49
ОВУ 1,28 [%]	0,10	0,15	0,16
ОВУ 0,73 [%]	0,11	0,12	0,15

Таблица 7. Примеси, обнаруженные при 285 нм через 3 месяца хранения при 25°C

Примеси	# 7 (Arg pH 3,0)	#6 (Arg pH 3,4)	#5 (Arg pH 3,8)
ОВУ 0,12 [%]	0,42	0,52	0,60
ОВУ 1,16 [%]	0,22	0,42	0,47
ОВУ 1,28 [%]	0,12	0,19	0,20
ОВУ 0,73 [%]	0,64	0,44	0,48

Пример 6. Исследования стабильности продолжительностью 6 месяцев

Приготовление раствора для лиофилизации

12 различных вариантов препарата приготовили (см. таблицу 8), лиофилизировали и проанализировали на предмет содержания трабектедина и профиля чистоты с течением времени. Каждый препарат содержит 0,25 мг/мл трабектедина перед лиофилизацией.

Таблица 8. Варианты препарата

#	Объемообразующее средство	Буфер	Способ регулирования pH	pH
1	0,1 М Arg	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
2	0,1 М Arg 35 мг маннита (мас./мас.)	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
3	0,1 М Arg	10 mM ацетата натрия	H ₃ PO ₄	4,0
4	0,1 М L-ацетилцистеина	10 mM лимонной кислоты	NaOH	4,0
5	0,1 М Arg 0,2% (мас./об.) L-аскорбиновой кислоты	10 mM лимонной кислоты	NaOH	4,0
6	0,1 М валина	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
7	0,1 М L-аспарагиновой кислоты	-	lysine	4,0
8	0,1 М L-цитруллина	10 mM лимонной кислоты	NaOH	4,0
9	0,1 М Arg 10 mM монотиоглицерина	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
10	0,1 М Arg 0,2% (мас./об.) L-метионина	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
11	0,1 М Arg 0,2% (мас./об.) Твина-20	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0
12	0,1 М Arg 0,1% (мас./об.) ЭДТА	10 mM лимонной кислоты	H ₃ PO ₄	4,0

Выбранные варианты препаратов смешивали путем предварительного взвешивания примерно 12,5 мг трабектедина в стеклянном флаконе вместимостью 50 мл и прибавления расчетного количества растворителя для достижения целевой концентрации трабектедина 0,25 мг/мл.

Каждый из 12 вариантов препарата (буфер без АФС) был приготовлен путем индивидуального взвешивания соответствующих веществ в стакане, растворения в 90% указанного объема воды очищенной, корректировки pH раствором гидроксида натрия (30%) или раствором хлористоводородной кислоты (25%) для варианта №7 и ортофосфорной кислоты (85%) для остальных вариантов с последующим прибавлением воды очищенной до конечного объема. Рассчитанное количество растворителя (буфера) затем прибавляли к предварительно взвешенному трабектедину в стеклянном флаконе вместимостью 50 мл для достижения целевой концентрации трабектедина 0,25 мг/мл. Объем буфера для разбавления адаптировали к массам фактической навески по 0,25 мг/мл для каждого варианта. Раствор перемешивали на магнитной мешалке в течение приблизительно 30 минут при комнатной температуре (22°C) до полного растворения. Лиофилизированный раствор фильтровали с использованием шприцевых фильтров 0,2 мкм (Millipore, мембрана Fluorodyne®II) и разливали (1 мл на флакон) в очищенные и депирогенизированные стеклянные флаконы 10R.

Лиофилизация

Заполненные флаконы частично закупорили в положении для лиофилизации, загрузили в лотки из нержавеющей стали, завернули и запечатали в пакеты LyoProtect® (пакеты с паропроницаемой мембраной из ПТФЭ для предотвращения загрязнения лиофилизатора). Флаконы загрузили в лиофилизатор и лиофилизировали.

После лиофилизации флаконы продули при давлении 750 мбар азотом и закрыли. После выгрузки флаконы обжали и деконтаминировали системой 70% изопропанол/вода.

Хранение

Лиофилизированные образцы хранили при 25°C до шести месяцев и анализировали сразу после лиофилизации (T0), через один месяц (T1m), три месяца (T3m) и 6 месяцев (T6m) хранения в отношении следующего:

- внешний вид;
- поведение при восстановлении;
- прозрачность раствора (нефелометрическая мутность);
- измерение pH после восстановления;
- профиль разложения методом ОФ-ВЭЖХ; а также
- остаточное содержание воды с использованием общего метода Карла Фишера с термостатом (только T0).

Восстановление

С флаконов снимали пробки, и лиофилизаты восстанавливали 5,0 мл очищенной воды с помощью пипетки; скорость и поведение при восстановлении контролировались

Определение остаточного содержания воды с использованием общего метода Карла Фишера с термостатом

Остаточную влажность образцов определяли титрованием по методу Карла Фишера с использованием кулометра Карла Фишера 756, оснащенного устройством для обработки образцов с термостатом 774 (Metrohm).

Для каждого измерения один лиофилизат каждого образца (≈ 20 -50 мг) переносили во флакон Карла-Фишера. Записывали точную массу. Флакон запечатывали обжимным колпачком и переносили в термостат кулометра Карла Фишера, нагретый до 110°C. Септу обжимного колпачка протыкали иглой для инъекций, а образовавшийся водяной пар переносили непосредственно в камеру для титрования через сухой азот. Пустые стеклянные флаконы использовались в качестве холостого образца для коррекции. Образцы анализировали дважды.

Измерение pH

pH образцов измеряли непосредственно во флаконе после восстановления (5 мл очищенной воды) с помощью обычного pH-метра.

pH-метр: SevenMulti, Mettler Toledo с микроэлектродом

Перед использованием pH-метр откалибровывали при pH 4,0, pH 7,0 и pH 9,0.

Содержание и чистота методом ОФ-ВЭЖХ

ОФ-ВЭЖХ выполняли в соответствии с таблицей 4.

Детектирование примесей проводили при двух различных длинах волн детектора (285 нм и 255 нм), чтобы охватить все возможные примеси. Было замечено, что некоторые примеси демонстрировали большее оптическое поглощение при одной из длин волн, чем при другой. Таким образом, подход, заключающийся в оценке при двух разных длинах волн, поддерживает полный охват всех соответствующих примесей.

Приготовление образцов:

Для анализа ОФ-ВЭЖХ лиофилизат восстанавливали 1 мл очищенной воды. Дальнейшего разбавления образца для анализа ВЭЖХ не требуется.

Содержание и чистота лиофилизатов

Восстановленные лиофилизаты анализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ для определения содержания трабектедина и профиля чистоты. Результаты резюмированы в таблице 13 и таблице 14. В таблице 13 показано содержание трабектедина в моменты T₀, T_{1m}, T_{3m} и T_{6m}, измеренное с помощью ОФ-ВЭЖХ в процентах от стандарта. Все образцы демонстрируют стабильное содержание трабектедина с течением времени. В таблице 14 показана чистота образцов в виде относительной площади пика трабектедина,

проанализированного ОФ-ВЭЖХ. Все образцы демонстрируют профиль высокой чистоты с течением времени.

Профиль примесей образцов

Образцы хранили при 25°C и анализировали через 1, 3 и 6 месяцев. 25°C считается ускоренными условиями испытаний, которые позволяют оценить стабильность препаратов. Условия долгосрочного хранения, вероятнее всего, представляют собой хранение в холодильнике (2 – 8°C).

Примеси образцов были проанализированы, и результаты представлены в следующих таблицах.

Таблица 9. Профиль примесей препарата №1 (0,1 М Arg, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	<0,1	0,11
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,43	0,51
Et-701	<0,1	0,13	0,26	0,27
Et-759B	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	<0,1	0,15
ОВУ 1,35	<0,1	<0,1	0,26	0,11
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,40
Всего при 285 нм	0,00	0,13	0,95	1,65
Примеси при 255 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,18	0,39	1,08	0,42
ОВУ 0,31	0,30	0,36	1,10	0,35
ОВУ 0,76	0,13	0,30	0,89	0,36
ОВУ 1,38	<0,1	0,34	1,24	0,27
ОВУ 1,46	<0,1	0,19	<0,1	0,49
ОВУ 1,65	<0,1	0,23	<0,1	0,64
Всего при 255 нм	0,61	1,81	4,31	2,53

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 10. Профиль примесей препарата №2 (0,1 М Arg, 35 мг/мл маннита, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	<0,1	0,13
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	1,14	1,26
ОВУ 0,17	<0,1	<0,1	0,23	0,17
ОВУ 0,40	<0,1	<0,1	0,13	0,10
ОВУ 0,43	<0,1	<0,1	<0,1	0,14
ОВУ 0,45	<0,1	0,17	0,19	0,12
Et-701	0,16	0,67	0,68	0,94
Et-745	<0,1	0,28	0,84	0,70
ОВУ 1,24	<0,1	1,14	2,26	3,27
ОВУ 1,35	<0,1	<0,1	<0,1	0,15
Et-759A	<0,1	0,26	0,44	0,33
ОВУ 1,51	<0,1	<0,1	<0,1	0,13
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,36

Всего	0,16	2,52	5,91	7,80
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,20	1,28	2,84	2,84
ОВУ 0,31	0,35	0,53	1,31	0,58
ОВУ 0,76	0,14	0,62	1,08	0,74
ОВУ 1,23	<0,1	0,25	0,48	0,98
ОВУ 1,38	<0,1	0,53	1,97	1,69
ОВУ 1,46	<0,1	0,11	0,16	0,29
ОВУ 1,57	<0,1	<0,1	<0,1	0,15
ОВУ 1,65	<0,1	<0,1	<0,1	0,31
ОВУ 1,69	<0,1	0,11	<0,1	0,31
Всего	0,69	3,43	7,84	7,89

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 11. Профиль примесей препарата №3 (0,1 М Arg, 10 мМ ацетата натрия, H_3PO_4)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	<0,1	0,13
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,45	0,53
Et-701	<0,1	0,14	0,31	0,38
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,27	0,16
ОВУ 1,66	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,36
Всего	0,00	0,14	1,03	1,66
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,29	0,64	1,01	0,58
ОВУ 0,31	0,32	0,53	1,14	0,44
ОВУ 0,76	0,21	0,49	0,81	0,45
ОВУ 1,38	0,16	0,71	1,05	0,43
ОВУ 1,46	<0,1	<0,1	<0,1	0,27
ОВУ 1,57	<0,1	<0,1	<0,1	0,11
ОВУ 1,65	<0,1	<0,1	<0,1	0,52
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	<0,1	0,23
Всего	0,98	2,37	4,01	3,03

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 12. Профиль примесей препарата №4 (0,1 М L-ацетилцистеина, 10 мМ лимонной кислоты, NaOH)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,08	<0,1	<0,1	<0,1	2,40
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	0,29	0,44
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	<0,1	0,40
ОВУ 0,55	<0,1	<0,1	0,17	<0,1
Et-701	0,14	0,45	0,51	0,87
ОВУ 0,96	0,84	0,80	0,82	0,69
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,35
Всего	0,98	1,25	1,79	5,15
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,31	<0,1	0,18	0,32	<0,1
ОВУ 1,57	<0,1	<0,1	<0,1	0,18
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	<0,1	0,11

Всего	0,00	0,18	0,32	0,29
-------	------	------	------	------

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 13. Профиль примесей препарата №5 (0,1 М Arg, 0,2% (мас./об.) L-аскорбиновой кислоты, 10 мМ лимонной кислоты, NaOH)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,10	<0,1	<0,1	<0,1	0,76
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	0,24	0,66
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,18	0,25
ОВУ 0,15	<0,1	<0,1	<0,1	0,26
ОВУ 0,45	<0,1	0,18	0,22	0,21
Et-701	<0,1	0,19	0,32	0,32
ОВУ 0,85	<0,1	<0,1	0,10	<0,1
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,31
Всего	0,00	0,37	1,06	2,77
Примеси при 255 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,20	0,29	0,42	0,35
ОВУ 0,76	0,12	0,18	0,30	0,22
ОВУ 1,46	<0,1	<0,1	<0,1	0,11
ОВУ 1,57	<0,1	<0,1	<0,1	0,12
ОВУ 1,65	<0,1	<0,1	0,22	0,45
Всего	0,32	0,47	0,94	1,25

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 14. Профиль примесей препарата №6 (0,1 М валина, 10 мМ лимонной кислоты, H₃PO₄)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,11	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	1,62	2,31
ОВУ 0,43	<0,1	<0,1	<0,1	0,14
ОВУ 0,45	<0,1	0,32	0,11	0,24
Et-701	0,13	0,65	0,25	0,45
ОВУ 0,77	<0,1	0,32	1,12	0,92
ОВУ 0,92	<0,1	<0,1	<0,1	0,13
Et-745	<0,1	0,39	0,17	0,28
Et-759B	<0,1	<0,1	0,43	0,18
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,27	0,20
ОВУ 1,35	<0,1	<0,1	0,13	0,32
Et-759A	<0,1	0,37	<0,1	0,19
ОВУ 1,51	<0,1	<0,1	<0,1	0,21
ОВУ 1,66	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,33
Всего	0,13	2,05	4,10	6,10
Примеси при 255 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,22	<0,1	<0,1	0,31	0,32
ОВУ 0,27	0,76	3,85	9,56	10,94
ОВУ 0,31	<0,1	0,47	1,09	0,44
ОВУ 0,76	0,59	2,91	6,07	7,84
ОВУ 1,38	<0,1	0,27	0,55	0,17
ОВУ 1,46	<0,1	<0,1	<0,1	0,42
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,73

ОВУ 1,65	<0,1	0,12	0,25	0,62
ОВУ 1,69	<0,1	0,22	<0,1	0,37
Всего	1,35	7,84	17,83	21,85

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 15. Профиль примесей препарата №7 (0,1 М L-аспарагиновой кислоты, лизин)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,99	1,16
ОВУ 0,17	<0,1	<0,1	0,15	0,17
ОВУ 0,43	<0,1	<0,1	<0,1	0,11
ОВУ 0,70	<0,1	<0,1	0,11	0,11
Et-701	<0,1	0,64	0,95	1,44
ОВУ 0,90	<0,1	0,15	0,18	0,29
ОВУ 0,96	<0,1	0,10	0,13	0,14
Et-745	0,27	0,78	0,93	1,15
Et-759B	0,34	0,63	0,68	0,58
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,31	0,19
Et-759A	<0,1	0,39	0,48	0,68
ОВУ 1,59	<0,1	<0,1	<0,1	0,12
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,25
Всего	0,61	2,69	4,91	6,39
Примеси при 255 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,26	1,24	3,73	4,02
ОВУ 0,31	0,30	0,43	1,63	1,08
ОВУ 0,43	<0,1	<0,1	<0,1	0,12
ОВУ 0,76	0,24	1,06	3,32	3,22
ОВУ 1,31	<0,1	<0,1	<0,1	0,19
ОВУ 1,38	<0,1	0,28	0,88	0,56
ОВУ 1,46	0,16	0,23	<0,1	0,13
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,30
ОВУ 1,65	<0,1	0,14	<0,1	0,23
ОВУ 1,69	<0,1	0,28	0,81	1,52
Всего	0,96	3,66	10,37	11,37

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 16. Профиль примесей препарата №8 (0,1 М L-цитруллина, 10 мМ лимонной кислоты, NaOH)

Примеси при 285 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,45	0,52
Et-701	<0,1	0,10	0,16	0,20
Et-759B	0,17	0,21	0,42	0,23
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,30	0,20
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,25
Всего	0,17	0,31	1,33	1,40
Примеси при 255 нм	Относительная площадь пика примеси [%]			
	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,32	0,93	1,90	1,97
ОВУ 0,31	0,66	0,63	1,63	1,04
ОВУ 0,76	0,28	0,75	1,42	1,38
ОВУ 1,38	<0,1	0,12	0,80	0,31
ОВУ 1,46	<0,1	0,29	<0,1	0,24

ОВУ 1,65	<0,1	0,11	0,11	0,27
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	<0,1	0,43
Всего	1,26	2,83	5,86	5,64

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 17. Профиль примесей препарата № 9 (0,1 М Arg, 10 мМ монотиоглицерина, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
Et-701	<0,1	0,19	0,25	0,44
ОВУ 0,85	0,25	0,26	0,28	0,29
Et-759A	<0,1	<0,1	<0,1	0,12
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,27
Всего	0,25	0,45	0,53	1,22
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	<0,1	<0,1	0,15	0,10
ОВУ 0,31	0,13	0,13	0,24	0,16
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,23
ОВУ 1,65	<0,1	<0,1	<0,1	0,15
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	<0,1	0,15
Всего	0,13	0,13	0,39	0,79

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 18. Профиль примесей препарата № 10 (0,1 М Arg, 0,2% (мас./об.) L-метионина, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,53	0,59
Et-701	<0,1	0,12	0,24	0,26
Et-759B	<0,1	<0,1	0,27	0,12
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,25	0,18
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,26
Всего	0,00	0,12	1,29	1,41
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,31	0,53	1,40	1,31
ОВУ 0,31	0,32	0,20	0,90	0,56
ОВУ 0,76	0,22	0,34	1,13	0,99
ОВУ 1,38	<0,1	0,25	1,05	0,59
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,20
ОВУ 1,65	<0,1	0,30	0,21	0,51
Всего	0,85	1,62	4,69	4,16

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 19. Профиль примесей препарата № 11 (0,1 М Arg, 0,2% (мас./об.) твина-20, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,44	0,43
Et-701	<0,1	0,13	0,26	0,31
ОВУ 0,90	<0,1	<0,1	<0,1	0,12
Et-745	<0,1	0,18	0,52	1,00
ОВУ 1,20	<0,1	<0,1	<0,1	0,10

Et-759B	<0,1	<0,1	0,18	<0,1
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,26	0,17
ОВУ 1,31	<0,1	<0,1	<0,1	0,25
ОВУ 1,35	<0,1	<0,1	<0,1	0,14
Et-759A	<0,1	0,15	0,43	0,88
ОВУ 1,51	<0,1	<0,1	<0,1	0,10
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,26
Всего	0,00	0,46	2,09	3,76
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,20	0,71	1,92	1,94
ОВУ 0,31	0,50	0,59	1,21	0,93
ОВУ 0,43	<0,1	<0,1	0,11	0,19
ОВУ 0,76	0,16	0,58	1,51	1,46
ОВУ 1,38	<0,1	0,16	0,44	0,19
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,30
ОВУ 1,65	<0,1	0,39	0,25	0,53
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	0,22	0,24
Всего	0,86	2,43	5,66	5,78

среднее для двух введений включают в отчет, если >0,1%

Таблица 20. Профиль примесей препарата № 12 (0,1 М Arg, 0,1% (мас./об.) ЭДТА, 10 мМ лимонной кислоты, H_3PO_4)

	Относительная площадь пика примеси [%]			
Примеси при 285 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,12	<0,1	<0,1	0,44	0,45
Et-701	<0,1	0,23	0,29	0,37
Et-759B	<0,1	<0,1	0,21	<0,1
ОВУ 1,24	<0,1	<0,1	0,26	0,18
ОВУ 1,84	<0,1	<0,1	<0,1	0,28
Всего	0,00	0,23	1,20	1,28
Примеси при 255 нм	T0	T1m	T3m	T6m
ОВУ 0,27	0,33	0,31	1,13	0,98
ОВУ 0,31	0,37	0,38	1,10	0,65
ОВУ 0,76	0,24	0,24	0,90	0,72
ОВУ 1,38	0,12	0,23	1,06	0,58
ОВУ 1,52	<0,1	<0,1	<0,1	0,23
ОВУ 1,65	<0,1	0,22	0,16	0,38
ОВУ 1,69	<0,1	<0,1	0,23	0,26
Всего	1,06	1,38	4,58	3,80

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая трабектедин и аминокислоту, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:10 до 1:250
2. Композиция по п. 1, где указанная аминокислота выбрана из группы, состоящей из аргинина, гистидина, лизина, фенилаланина и изолейцина, метионина, ацетилцистеина, цистеина, цитруллина или любой их комбинации.
3. Композиция по п. 2, где указанная аминокислота представляет собой L-аргинин.
4. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:50 до 1:100.
5. Композиция по п. 4, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет около 1:70.
6. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где указанная композиция дополнительно содержит буферный агент.
7. Композиция по п. 5, где указанный буферный агент выбран из группы, состоящей из лимонной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, основной аминокислоты и гидроксида натрия или любой их смеси, или смеси лимонной кислоты, фосфорной кислоты и возможно основной аминокислоты.
8. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где указанная композиция содержит дополнительные вещества, выбранные из группы, содержащей комплексообразующее средство, такое как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); антиоксидант, такой как монотиоглицерин; поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат, и аскорбиновую кислоту.
9. Лиофилизированный препарат, содержащий трабектедин и аминокислоту, где массовое отношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:10 до 1:250.
10. Лиофилизированный препарат по п. 9, где указанная аминокислота выбрана из группы, состоящей из аргинина, гистидина, лизина, фенилаланина и изолейцина, метионина, ацетилцистеина, цистеина, цитруллина или любой их комбинации.
11. Лиофилизированный препарат по п. 10, где указанная аминокислота представляет собой L-аргинин.
12. Лиофилизированный препарат по любому из пп. 9-11, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:50 до 1:100.
13. Лиофилизированный препарат по п. 12, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет около 1:70.

14. Лиофилизированный препарат по любому из пп. 9-13, где указанная композиция дополнительно содержит буферный агент.

15. Лиофилизированный препарат по п. 14, где указанный буферный агент выбран из группы, состоящей из лимонной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, основной аминокислоты и гидроксида натрия или любой их смеси, или смеси лимонной кислоты, фосфорной кислоты и возможно основной аминокислоты.

16. Лиофилизированный препарат по любому из пп. 9-15, где указанная композиция содержит дополнительные вещества, выбранные из группы, содержащей комплексообразующее средство, такое как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); антиоксидант, такой как монотиоглицерин; поверхностно-активное вещество, такое как полисорбат, и аскорбиновую кислоту.

17. Лиофилизированный препарат по пп. 9 и 15, где указанная аминокислота представляет собой L-аргинин, а указанный буферный агент представляет собой лимонную кислоту или фосфорную кислоту или их смесь.

18. Лиофилизированный препарат по любому из пп. 9-17, где указанный препарат предоставляется во флаконе.

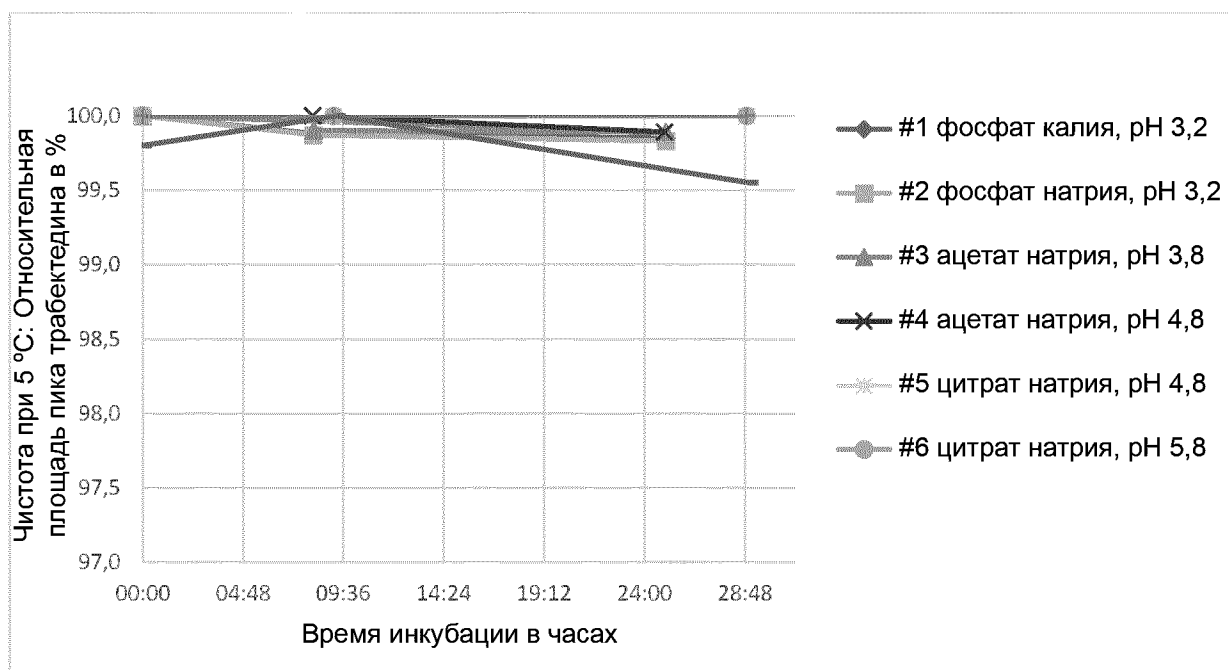
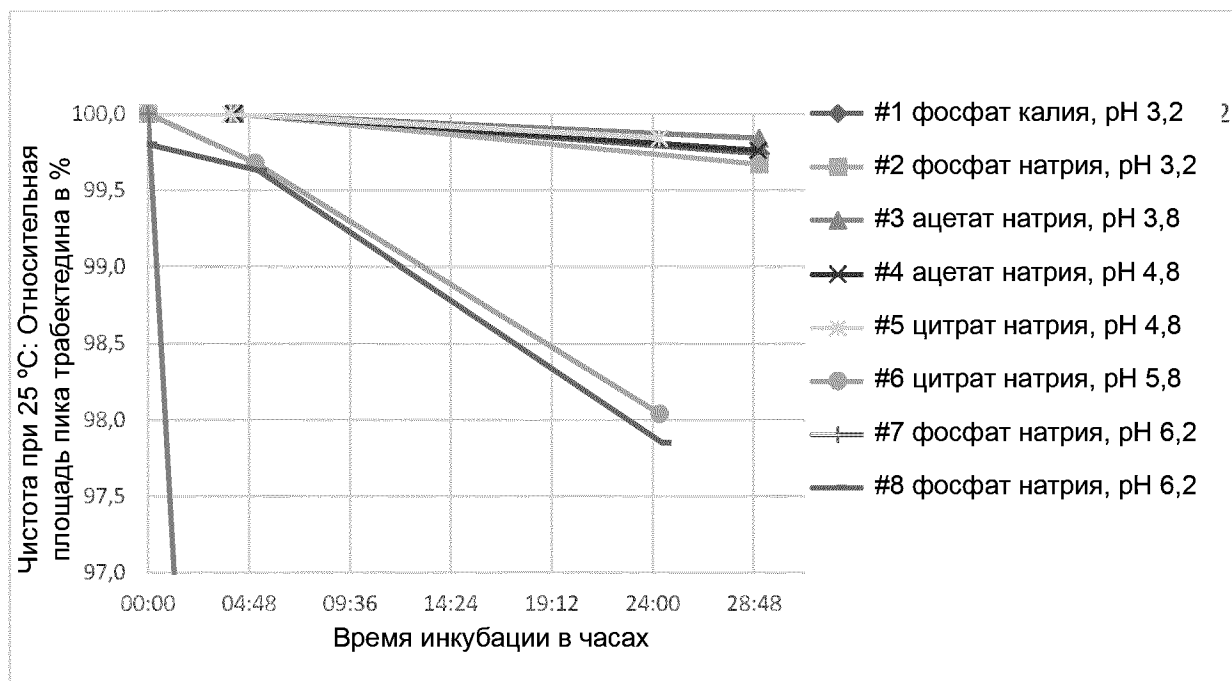
19. Лиофилизированный препарат по п. 18, где указанный флакон содержит от 0,1 до 1 мг трабектедина, от 10 до 60 мг L-аргинина, от 0,5 до 8 мг лимонной кислоты, от 5 до 40 мг фосфорной кислоты.

20. Лиофилизированный препарат по п. 18, где указанный флакон содержит 0,25 мг трабектедина, 17,4 мг L-аргинина, 1,9 мг лимонной кислоты и 10-15 мг фосфорной кислоты.

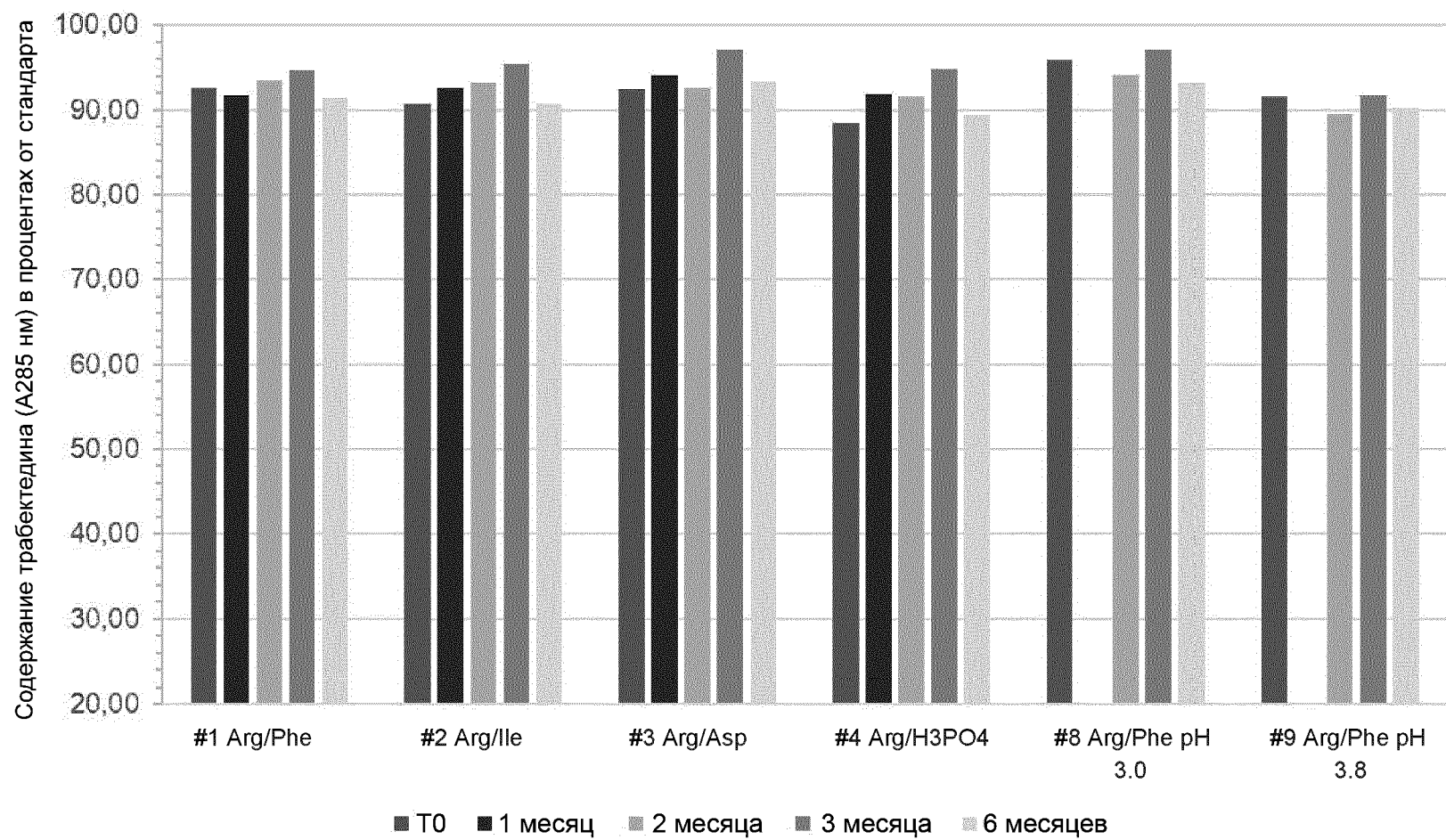
21. Раствор для внутривенной инфузии, содержащий трабектедин, аминокислоту, буферный агент и воду для инъекций, где массовое соотношение (мас./мас.) трабектедина к аминокислоте составляет от 1:50 до 1:250.

22. Раствор для внутривенной инфузии по п. 21, применяемый при лечении рака.

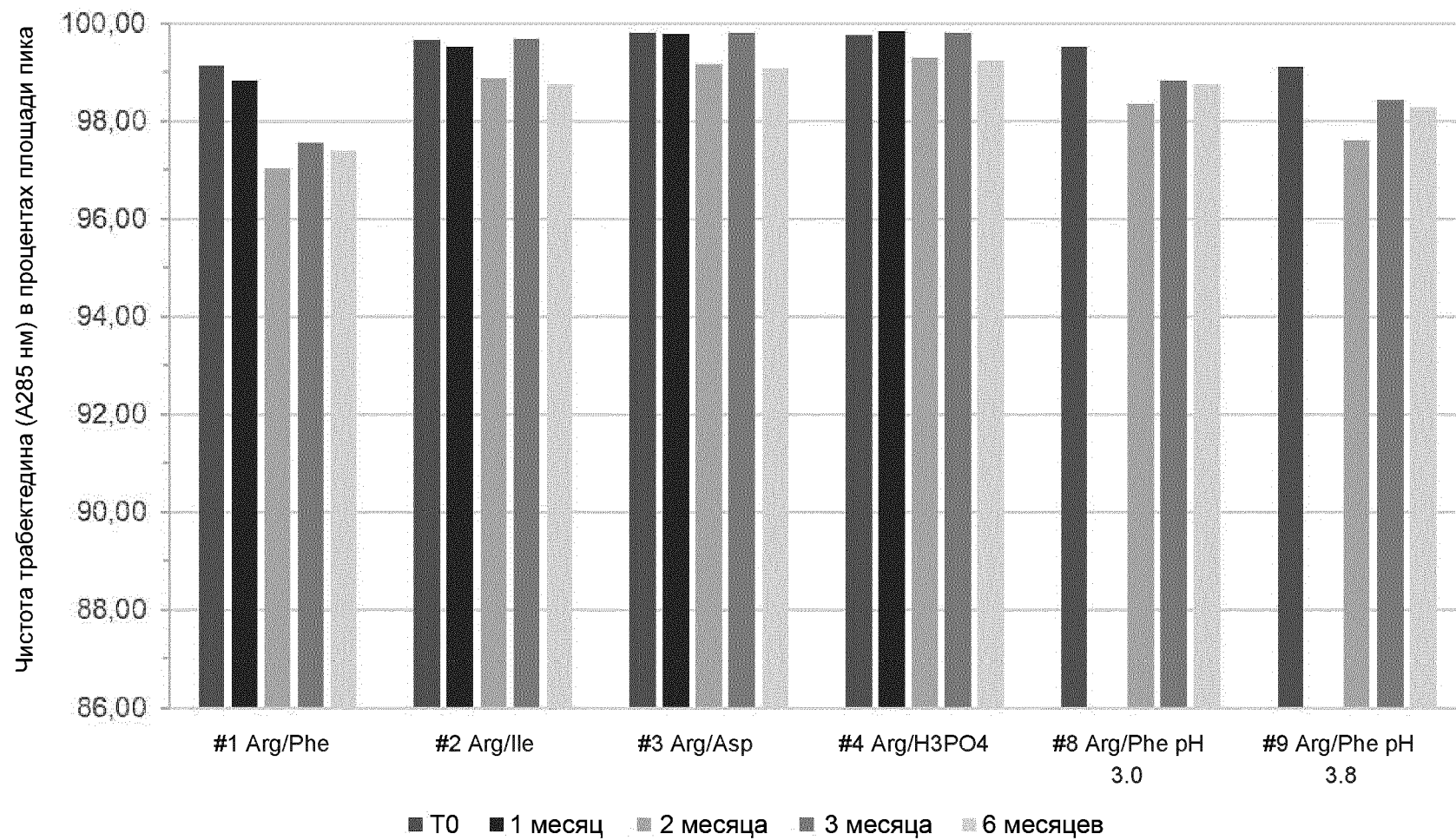
23. Раствор для внутривенной инфузии по п. 22, где указанный рак представляет собой саркому, выбранную из группы лейомиосаркомы, липосаркомы, остеосаркомы, рака яичников, рака молочной железы, меланомы, колоректального рака, мезотелиомы, рака почки, рака эндометрия и рака легкого или любой их комбинации.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3