

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391769 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.10.11

(51) Int. Cl. *A61K 31/438* (2006.01)
A61P 1/08 (2006.01)
C07D 471/10 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.12.24

(54) ПРИМЕНЕНИЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРОЛЕКАРСТВА АНТАГОНИСТА NK1 В КОМБИНАЦИИ С АНТАГОНИСТОМ РЕЦЕПТОРА 5-HT3

(31) 202011559059.6; 202111066727.6

(72) Изобретатель:

(32) 2020.12.25; 2021.09.13

Сюй Дапин, Ян Чанюн, Ляо Чэн,
Чжан Ляньшань, Хуан Цзянь (CN)

(33) CN

(86) PCT/CN2021/141009

(87) WO 2022/135549 2022.06.30

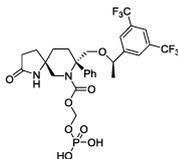
(74) Представитель:

Хмара М.В. (RU)

(71) Заявитель:

ШАНХАЙ ШЭНДИ
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД.;
ШАНХАЙ СЭНЬХУЭЙ МЕДИЦИН
КО., ЛТД.; ЦЯНСУ ХЭНЖУЙ
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ КО., ЛТД. (CN)

(57) Изобретение относится к применению соединения пролекарства антагониста NK1 и антагониста рецептора 5-HT3. В частности, настоящее изобретение относится к применению соединения, представленного формулой (I), или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT3 для получения лекарственного средства для предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты.



A1

202391769

202391769

A1

ПРИМЕНЕНИЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРОЛЕКАРСТВА АНТАГОНИСТА NK1 В КОМБИНАЦИИ С АНТАГОНИСТОМ РЕЦЕПТОРА 5-HT3

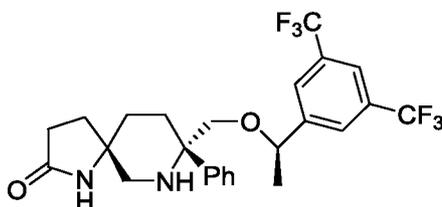
ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

5 Настоящее изобретение относится к области фармацевтических средств и, в частности, относится к применению пролекарства ролапитанта в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT3 для получения лекарственного средства для предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты.

10 ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Такикинины представляют собой пептидные лиганды нейрокининовых рецепторов. Нейрокининовые рецепторы, такие как NK1, NK2 и NK3, участвуют в разных биологических процессах. Их можно обнаружить в нервной и кровеносной системах млекопитающих и в окружающих тканях. Таким образом, регуляцию таких
15 рецепторов исследовали в отношении возможного лечения или предупреждения разных заболеваний у млекопитающих. Типичные антагонисты нейрокининовых рецепторов и их применение включают: US5760018 (1998) (боль, воспаление, мигрень и рвота), US5620989 (1997) (боль, ноцицепция и воспаление), WO95/19344 (1995), WO94/13639 (1994) и WO94/10165 (1994). Другие классы антагонистов
20 рецепторов NK1 также включают: Wu et al., *Tetrahedron* 56, 3043-3051 (2000); Rombouts et al., *Tetrahedron Letters* 42, 7397-7399 (2001); и Rogers et al., *Tetrahedron* 57, 8971-8981 (2001).

В US7049320 предложен эффективный и селективный антагонист NK1 с полезными терапевтическими и фармакологическими свойствами и хорошей
25 метаболической стабильностью, ролапитант, который может быть представлен в виде свободного основания или в виде фармацевтически приемлемой соли и подходит для композиции для парентерального введения,

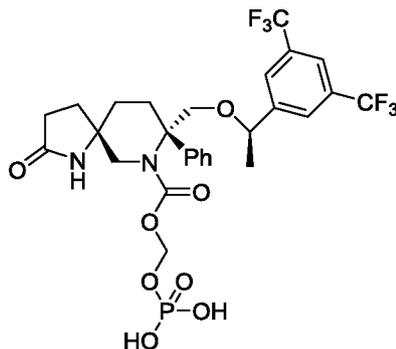


В US9101615 предложено пролекарство ролапитанта, а именно пролекарство
30 и его соль соединения формулы I с водородом свободных аминов (или двух аминов), замещенным группой, выбранной из группы, состоящей из -Y и -X, где Y выбран из группы, состоящей из -P(O)(OH)₂, -S(O)_nR¹, -C(O)(C₁₋₆ алкила)X, -C(O)(C₁₋₆

алкила)(арила) и $-C(O)OR^4$; X выбран из группы, состоящей из $-NR^2R^3$, $-P(O)(OH)_2$, и $-S(O)_{n1}R_1$; R^1 представляет собой H или C_{1-6} алкил; R^2 представляет собой H или C_{1-6} алкил; R^3 представляет собой H или C_{1-6} алкил; R^4 представляет собой H или C_{1-6} алкил; и $n1$ представляет собой 0-4. Пролекарство можно использовать в
5 подходящих жидких композициях (с или без носителя для парентеральной доставки) для лечения пациентов, нуждающихся в лечении ими.

В еще одном аспекте гемолиз, индуцированный действием лекарственного средства, является следствием разрушения большого количества эритроцитов из-за факторов иммунной системы после поступления лекарственного средства в
10 организм человека, и в клинической практике встречаются явления гемолиза, такие как анемия, желтуха и моча цвета соевого соуса. Гемолитическую анемию, обусловленную действием лекарственного средства, можно подразделять на три типа: (1) иммунитет, обусловленный действием лекарственного средства, приводящий к гемолитической реакции, опосредованной антителами; (2)
15 лекарственное средство действует на эритроциты с наследственной ферментной недостаточностью (например, недостаточность G6PD); и (3) гемолитическое взаимодействие лекарственного средства с аномальным гемоглобином. Ключевое решение для лечения заболевания заключается в остановке приема релевантных лекарственных средств и осуществлении контроля над возникновением гемолиза
20 таким образом, чтобы предупреждать возникновение осложнений. Для решения проблемы низкой растворимости соединения формулы I при физиологическом pH композицию на основе соразтворителя, содержащую Каптизол, пропиленгликоль и этанол, использовали для значительного повышения растворимости соединения 1. Однако, композиция на основе соразтворителя оказывала значительный
25 гемолитический эффект после внутривенного введения. В CN102573475 раскрыта улучшенная формула, содержащая полиэтиленгликоль 15-гидроксистеарат и среднецепочечный триглицерид. Однако, гемолитический эффект данной фармацевтической композиции все еще не полностью изучен, даже когда соединение формулы I получено в виде фосфат-содержащего пролекарства.

30 В PCT/CN2020/098460 предложено новое соединение пролекарства антагониста NK1, эффективное в лечении разных физиологических расстройств, состояний и заболеваний с меньшим количеством побочных эффектов, структура которого показана ниже:

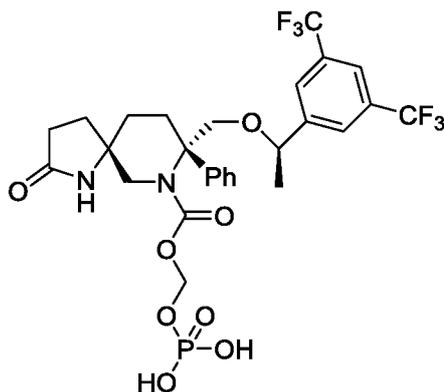


I

Согласно настоящему раскрытию предложено применение нового соединения пролекарства антагониста NK1, эффективного в лечении разных физиологических расстройств, состояний и заболеваний с уменьшенным количеством побочных эффектов, в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT3 для получения лекарственного средства для предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты, которое демонстрирует хорошие терапевтические эффекты.

10 КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно настоящему раскрытию предложено применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT3 для получения лекарственного средства для предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты.



I

15

В некоторых воплощениях антагонист рецептора 5-HT3 выбран из группы, состоящей из гранисетрона, ондансетрона, рамосетрона, трописетрона, палонсетрона и доласетрона, предпочтительно, палонсетрона.

В некоторых воплощениях соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе 10-500 мг, например, 10 мг, 20 мг, 27,25 мг, 30 мг, 40 мг, 50 мг, 54,5 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 81,75 мг, 90 мг, 100 мг, 109 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг, 136,25 мг, 140 мг, 150 мг, 160 мг, 163,5 мг, 170 мг, 180 мг, 190 мг, 190,75 мг, 200 мг, 210 мг, 218 мг, 220 мг, 230 мг, 240 мг, 245,25 мг, 250 мг, 260 мг, 270 мг, 272,5 мг, 280 мг, 290 мг, 299,75 мг, 300 мг, 310 мг, 320 мг, 327 мг, 330 мг, 340 мг, 350 мг, 354,25 мг, 360 мг, 370 мг, 380 мг, 381,5 мг, 390 мг, 400 мг, 408,75 мг, 410 мг, 420 мг, 430 мг, 436 мг, 440 мг, 450 мг, 460 мг, 463,25 мг, 470 мг, 480 мг, 490 мг, 490,5 мг или 500 мг, и можно вводить с частотой один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, один раз в неделю или один раз в две недели.

В некоторых воплощениях антагонист рецептора 5-HT₃ вводят в дозе 0,075-1 мг, например, 0,125 мг, 0,25 мг, 0,375 мг, 0,5 мг, 0,625 мг или 0,75 мг, предпочтительно 0,25-0,75 мг, и можно вводить с частотой один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, один раз в неделю или один раз в две недели.

В некоторых воплощениях соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе 27,25 мг, 54,5 мг, 81,75 мг, 109 мг, 136,25 мг, 163,5 мг, 190,75 мг, 218 мг, 245,25 мг, 272,5 мг, 299,75 мг, 327 мг, 354,25 мг, 381,5 мг, 408,75 мг, 436 мг, 463,25 мг или 490,5 мг и могут вводить с частотой один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, один раз в неделю или один раз в две недели. Антагонист рецептора 5-HT₃ можно вводить в дозе 0,125 мг, 0,25 мг, 0,375 мг, 0,5 мг, 0,625 мг или 0,75 мг, и можно вводить с частотой один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки, один раз в неделю или один раз в две недели.

Фармацевтически приемлемая соль лекарственного средства, описанного в данном документе, может представлять собой гидрохлорид, фосфат, гидрофосфат, сульфат, гидросульфат, сульфит, ацетат, оксалат, малонат, валерат, глутамат, олеат, пальмитат, стеарат, лаурат, борат, *l*-толуолсульфонат, метансульфонат, изетионат или малеат, малат, тартрат, бензоат, памоат, салицилат, ванилат, манделат, сукцинат, глюконат, лактобионат, лаурилсульфонат или т.п.

Способ, описанный в данном документе, используют для лечения или предупреждения тошноты и/или рвоты, вызванной множеством событий, включая тошноту и рвоту, вызываемую химиотерапией (CINV – от англ. chemotherapy-induced nausea and vomiting), вызываемую среднеэметогенной химиотерапией или высокоэметогенной химиотерапией, тошноту и рвоту, вызываемую облучением (RINV – от англ. radiation-induced nausea and vomiting) и послеоперационную тошноту и рвоту (PONV – от англ. postoperative nausea and vomiting). Способ предпочтительно осуществляют непосредственно перед возникновением события,

вызывающего рвоту (а именно, не более чем за 1 или 2 ч до события). Способ можно применять для лечения тошноты и/или рвоты во время острой фазы или отсроченной фазы тошноты. Способ введения комбинации, описанной в данном документе, выбран из группы, состоящей из одновременного введения, отдельного приготовления и совместного введения и отдельного приготовления и последовательного введения.

Путь введения комбинации, описанной в данном документе, выбран из перорального введения, парентерального введения (включая внутривенную инъекцию, подкожную инъекцию и внутримышечную инъекцию, но, не ограничиваясь ими) и трансдермального введения.

Кроме того, настоящее раскрытие относится к способу предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты, который включает введение пациенту соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и антагониста рецептора 5-HT₃.

Кроме того, настоящее раскрытие относится к способу предупреждения или лечения рвоты, который включает введение пациенту, страдающему от или находящемуся в группе риска страдания от рвоты, комбинации по настоящему изобретению. В других воплощениях согласно настоящему раскрытию предложен способ предупреждения или лечения рвоты посредством введения одной или более комбинаций, описанных в данном документе. Данную комбинацию предпочтительно вводят непосредственно перед событием, вызывающим рвоту (а именно, не более чем за 2 ч до события). Рвота может представлять собой острую рвоту (а именно, рвоту, возникающую в пределах примерно 24 ч после события, вызывающего рвоту), или отсроченную рвоту (а именно, рвоту, возникающую после острой фазы, но в пределах 7, 6, 5 или 4 суток после события, вызывающего рвоту). Рвота может включать тошноту и рвоту, вызываемую химиотерапией (CINV), вызываемую среднеэметогенной химиотерапией или высокоэметогенной химиотерапией, тошноту и рвоту, вызываемую облучением (RINV), и послеоперационную тошноту и рвоту (PONV). В воплощениях настоящего раскрытия комбинация дополнительно содержит другие компоненты, включая, но, не ограничиваясь другими противорвотными средствами и т.п. Кроме того, согласно настоящему раскрытию предложено соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль для применения в предупреждении или лечении тошноты и/или рвоты в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT₃.

Кроме того, согласно настоящему раскрытию предложен антагонист рецептора 5-HT₃ для применения в предупреждении или лечении тошноты и/или

рвоты в комбинации с соединением формулы (I) или его фармацевтически приемлемой солью.

Кроме того, настоящее раскрытие относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, антагонист рецептора 5-HT₃ и один или более фармацевтически приемлемых носителей. Фармацевтическая композиция может быть приготовлена в любой фармацевтически приемлемой лекарственной форме. Например, она может быть приготовлена в виде таблетки, капсулы, пилюли, гранулы, раствора, суспензии, сиропа, инъекции (включая раствор для инъекции, стерильный порошок для инъекции и концентрированный раствор для инъекции), суппозитория, средства для ингаляции или спрея.

Фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антагонист рецептора 5-HT₃, описанный в данном документе, можно вводить отдельно или в комбинации с одним или более терапевтическими средствами.

Компоненты, подлежащие объединению (например, соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, антагонист рецептора 5-HT₃ и любое другое лекарственное средство, являющееся компонентом), можно вводить одновременно или в отдельности и последовательно. Кроме того, компоненты, подлежащие объединению, можно также вводить в комбинации в одной и той же композиции или в отдельных и отличных композициях.

Кроме того, согласно настоящему раскрытию предложена упаковка лекарственного средства, в которую упакована фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антагонист рецептора 5-HT₃, описанная в данном документе.

Термин «комбинация» в контексте данного документа представляет собой способ введения и относится к введению по меньшей мере одной дозы соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и по меньшей мере одной дозы химиотерапевтического средства на протяжении определенного периода времени, где все вводимые средства демонстрируют фармакологические эффекты. Период времени может находиться в пределах одного цикла введения, предпочтительно в пределах 4 недель, в пределах 3 недель, в пределах 2 недель, в пределах 1 недели или в пределах 24 ч, более предпочтительно в пределах 12 ч. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антагонист рецептора 5-HT₃ можно вводить одновременно или последовательно. Лечение, при котором соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и

антагонист рецептора 5-НТЗ вводят одним и тем же путем введения или разными путями введения, включено в пределах данного периода времени. Способ введения комбинации, описанной в данном документе, выбран из группы, состоящей из одновременного введения, отдельного приготовления и совместного введения и отдельного приготовления и последовательного введения.

Термин «послеоперационная тошнота и/или рвота» (PONV) имеет традиционное значение в данной области. В данной области хорошо известно, что PONV означает, что один или более эпизодов рвоты (рвоты и/или рвотных позывов) или желания вырвать (тошнота) возникают после хирургического вмешательства. Рвотные позывы включают такие же физиологические механизмы, как в случае рвоты, но возникают при закрытой гортанной щели. Термин PONV может быть определен как тошнота и/или рвота, возникающие в пределах 48 ч после конца хирургического вмешательства или может быть определен как тошнота и/или рвота, возникающие в пределах 24 ч после конца хирургического вмешательства.

Фраза «терапевтически эффективное количество» относится к количеству терапевтического средства, которое вызывает желательный эффект, для которого его вводят. В некоторых воплощениях термин относится к количеству, достаточному для лечения заболевания, расстройства и/или состояния при введении популяции, страдающей от или чувствительной к такому заболеванию, расстройству и/или состоянию, в соответствии со схемой. В некоторых воплощениях терапевтически эффективное количество представляет собой количество, которое уменьшает частоту наступления и/или тяжесть и/или откладывает начало одного или более симптомов заболевания, расстройства и/или состояния. Средним специалистам в данной области будет понятно, что термин «терапевтически эффективное количество» по существу не требуется для достижения успешного лечения у конкретного индивида. Напротив, терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, которое, при введении пациенту, нуждающемуся в таком лечении, обеспечивает конкретный желательный фармакологический ответ у большого количества субъектов. В некоторых воплощениях ссылка на терапевтически эффективное количество может относиться к количеству, как измерено в одной или более конкретных тканях (например, тканях, находящихся под воздействием заболевания, расстройства или состояния) или жидкостях (например, крови, слюне, сыворотке, поту, слезах, моче и т.д.). Средним специалистам в данной области будет понятно, что, в некоторых воплощениях, терапевтически эффективное количество конкретного средства или терапии может быть приготовлено и/или введено в одной дозе. В некоторых воплощениях

терапевтически эффективное средство может быть приготовлено и/или введено в многократных дозах, например, как часть схемы.

5 Все числа в данном документе можно рассматривать как модифицированные термином «примерно», который, когда речь идет об измеряемой величине, такой как количество и продолжительность по времени, предназначен для того, чтобы охватывать варьирование $\pm 10\%$, предпочтительно $\pm 5\%$, или больше. Если не

указано иное, такие варьирования соответствуют получению лекарственного средства в желательном количестве, предпочтительно $\pm 1\%$, даже более предпочтительно $\pm 0,1\%$ от заданного значения.

10 Настоящее раскрытие улучшает терапевтические эффекты тошноты и/или рвоты посредством введения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT₃.

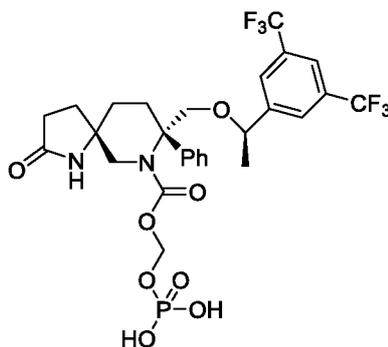
ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

15 Далее настоящее раскрытие описано ниже со ссылкой на примеры, которые не предназначены для ограничения объема настоящего раскрытия.

Экспериментальные процедуры без условий, указанных в разделе Примеры настоящего раскрытия, обычно проводят в соответствии с общепринятыми условиями или в соответствии с условиями, рекомендуемыми изготовителем

20 исходных материалов или коммерческих продуктов. Реагенты без указанных конкретных источников представляют собой имеющиеся в продаже стандартные реагенты.

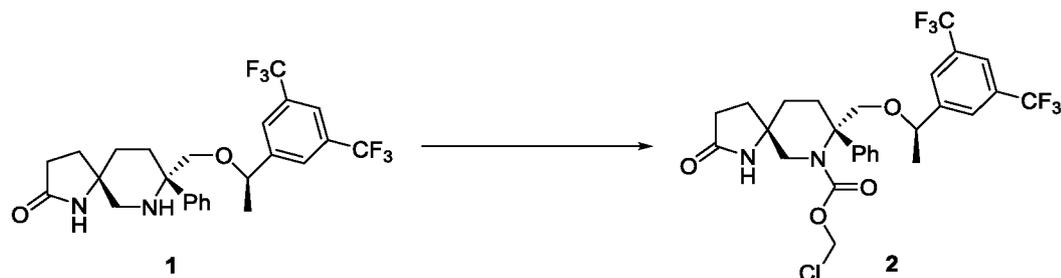
Пример 1



I

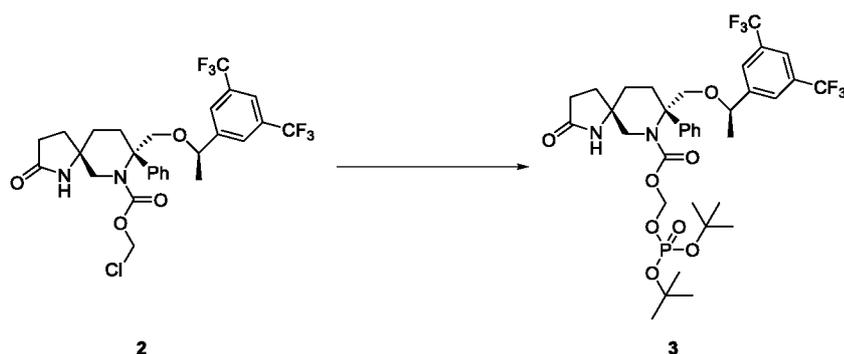
25

Стадия 1



В атмосфере N_2 соединение 1 (2,43 г, 4,86 ммоль, 1 экв.) взвешивали, добавляли в 100 мл трехгорлую колбу и растворяли в дихлорметане (36 мл), и добавляли диизопропилэтиламин (5 г, 38,76 ммоль, 8 экв.). Смесь охлаждали до -30°C и добавляли триметилхлорсилан (1,36 г, 12,52 ммоль, 2,6 экв.). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем, реакционный раствор охлаждали до -25°C и добавляли раствор хлорметилхлорформиата (0,77 г, 6 ммоль, 1,23 экв.) в дихлорметане. Полученную смесь перемешивали до завершения реакции, причем контролировали, чтобы температура составляла от -20°C до -5°C . Реакционный раствор наливали в ледяную воду для отделения жидкости, и водную фазу экстрагировали дихлорметаном. Воду и 1 н. раствор соляной кислоты добавляли для отделения жидкости, и органическую фазу последовательно промывали соевым, насыщенным водным раствором бикарбоната натрия и соевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением желтого желе (3,0 г, выход: 104%).

Стадия 2



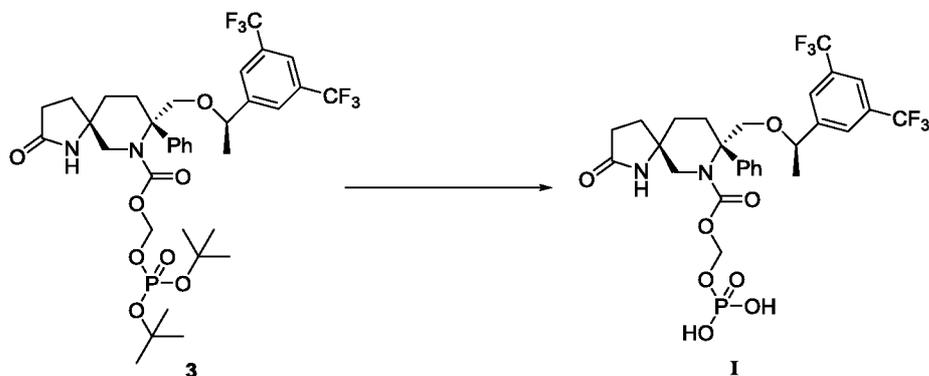
20

В атмосфере N_2 соединение 2 (2,8 г, 4,53 ммоль, 1 экв.), йодид тетрабутиламмония (1,68 г, 4,55 ммоль, 1 экв.), ди-*трет*-бутилфосфат калия (5,63 г, 22,67 ммоль, 5 экв.) и диоксан (84 мл) добавляли в 500 мл трехгорлую колбу. Смесь нагревали до 55°C и перемешивали в течение 4 ч. Реакционный раствор охлаждали и наливали в этилацетат и воду для отделения жидкости, и водную фазу

25

экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу промывали водным раствором сульфита натрия, затем последовательно промывали водой и солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением желтой пены (3,73 г, выход: 107%).

5 Стадия 3



В атмосфере азота N_2 соединение 3 (6,65 г, 8,67 ммоль, 1 экв.) добавляли в 500 мл одногорловую колбу и растворяли в дихлорметане (200 мл), и медленно добавляли трифторуксусную кислоту (9,89 г, 86,7 ммоль, 10,0 экв.) на ледяной бане. Смесь помешивали до завершения реакции. Реакционный раствор концентрировали с получением масла (2,29 г), которое очищали посредством использования колонки с обращенной фазой с силикагелем (C18) (раствор А: 20 ммоль водный раствор NH_4HCO_3 , раствор В: ацетонитрил), доводили до рН 1-2 1 М фосфорной кислотой и экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением целевого продукта, а именно, соединения формулы (I) (2,7 г).

20 Пример 2. исследование токсичности соединения Формулы (I) в комбинации с Палоносетроном у крыс

Соединение формулы (I), палоносетрон, или соединение формулы (I) + палоносетрон внутривенно инъектировали крысам 1-2 раза в неделю на протяжении 29 суток подряд с последующим перерывом на 4 недели для восстановления. Наблюдали за природой, степенью, зависимостями «доза-эффект» и «время-эффект» и обратимостью возможных токсичных реакций, определяли целевой орган или ткань, находящиеся под воздействием токсичности, и исследовали токсикокинетические характеристики данного средства для понимания взаимосвязи

между воздействующей дозой и токсикологическим результатом в исследовании токсичности.

Получение лекарственного средства

После пересчета на содержание требуемое количество соединения формулы (I) взвешивали и готовили до получения требуемой концентрации посредством добавления соответствующего количества 0,02 М фосфатного буфера (примерно pH 7,40). Композиция в низкой концентрации для введения может быть получена посредством разведения композиции в высокой концентрации для введения, и полученную композицию используют после фильтрования (через мембрану-фильтр PES). Условия временного хранения и срок годности для полученной композиции: 15-25°C, в защищенном от света месте, доступна в пределах 72 ч.

После пересчета на содержание требуемое количество палоносетрона взвешивали и готовили до получения требуемой концентрации посредством добавления соответствующего количества 0,02 М фосфатного буфера (примерно pH 7,40). Композиция в низкой концентрации для введения может быть получена посредством разведения композиции в высокой концентрации для введения, и полученную композицию используют после фильтрации (через фильтр-мембрану PES). Условия временного хранения и срок годности для полученной композиции: 15-25°C, в защищенном от света месте, доступна в пределах 72 ч.

В соответствии с фиксированным соотношением (соотношение соединения формулы (I) и свободного основания палоносетрона составляет 872:1), требуемое количество соединения формулы (I) и палоносетрона взвешивали и разводили до требуемой концентрации для обеспечения того, чтобы соотношение концентраций соединения формулы (I) и свободного основания палоносетрона составляло 872:1. Композицию в низкой концентрации для введения можно получать в результате разведения композиции в высокой концентрации для введения 0,02 М фосфатным буфером (примерно pH 7,40), и полученную композицию используют после фильтрования (через мембрану-фильтр PES). Условия временного хранения и срок годности для полученной композиции: 15-25°C, в защищенном от света месте, доступна в пределах 72 ч.

1.1. Введение

В эксперименте группы комбинаций с низкой дозой, средней дозой и высокой дозой, получающие соединение формулы (I) и палоносетрон распределяли (следующие дозы выражены как соединение формулы (I) + палоносетрон) следующим образом: 5 + 0,0006 мг/кг, 15 + 0,24 мг/кг и 30 + 10 мг/кг, соответственно.

Были созданы группы дозирования 5 мг/кг, 20 мг/кг и 40 мг/кг, получающие соединение формулы (I), и группа дозирования 10 мг/кг, получающая палоносетрон, причем доза соединения формулы (I) и доза палоносетрона были такими же, как доза соединения формулы (I) и доза палоносетрона в группе комбинации с высокой дозой. Кроме того, создавали контрольную группу, где равный объем носителя (0,02 М фосфатный буфер (примерно pH 7,40)) вводили посредством внутривенной инъекции.

Схема введения: внутривенная капельница, два раза в неделю на протяжении первых 4 недель и один раз в неделю на протяжении 5-ой недели, в общей сложности 9 раз, перерыв для восстановления на 4 недели после последнего введения, время введения: 15 мин/животное/время, и объем введения: 20 мл/кг.

1.2. Массу тела и потребление пищи определяли посредством наблюдения за активностью животных; гематологией, биохимией крови, стандартным исследованием мочи, офтальмологией, и проводили исследования мазков костного мозга; и анализировали соответствующие данные.

1.3. Токсикокинетика

Время отбора образцов:

Группы дозирования, получающие соединение формулы (I), группа дозирования, получающая палоносетрон, и группы дозирования, получающие соединение формулы (I) + палоносетрон: перед первым и последним введениями, и через 2 мин (± 30 с), 0,25 ч (± 1 мин), 0,5 ч (± 1 мин), 2 ч (± 1 мин), 4 ч (± 2 мин), 8 ч (± 5 мин), 24 ч (± 30 мин) и 48 ч (± 30 мин) после введения;

контрольная группа: перед первым и последним введениями, и через 2 мин (± 1 мин) после введения.

Способ отбора образцов: в соответствии с данной ситуацией, перед забором крови, смесь газов CO₂-O₂ (объемное соотношение 7:3) можно использовать для обезболивания.

Животные для отбора образцов: выжившие крысы в каждой из групп из первого и последнего отборов образцов для токсикокинетического исследования.

Место взятия образцов: яремная вена

Количество отбираемых образцов: $\geq 0,3$ мл.

Антикоагулянт: ЭДТА (Этилендиаминтетрауксусная кислота)-K2.

Обработка образцов крови: образец цельной крови помещали в холодильник перед центрифугированием и центрифугировали при 2-8°C в течение 10 мин при центробежной силе 1800×g. Выделяли две пробирки плазмы, откуда 50 мкл плазмы

добавляли в одну пробирку и оставшуюся плазму помещали в другую пробирку. Образец хранили при температуре ниже -66°C для выявления после внутренней упаковки.

1.4. Патологоанатомическое и гистопатологическое исследование

1.5. Статистический анализ

Количественные показатели, такие как масса тела, потребление пищи, гематология, биохимия крови, удельный вес мочи, процент каждой клеточной линии и количество мегакариоцитов согласно исследованию мазка костного мозга (при наличии), масса органа и коэффициент, были описаны как среднее \pm стандартное отклонение ($\bar{X} \pm SD$); и качественные показатели, такие как стандартное исследование мочи (за исключением удельного веса мочи) и пролиферация ядерных клеток в соответствии с исследованием мазка костного мозга (при наличии) (бинарная классификация, беспорядочная мультиклассификация и упорядоченная мультиклассификация), были описаны посредством подсчета частот. Когда количество образцов меньше чем 3, группу данных не подвергают статистическому сравнению.

Сначала количественные показатели подвергали испытанию однородности дисперсии посредством теста Левена. Когда дисперсия является однородной ($P > 0,05$), статистический тест проводят посредством однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA); и когда дисперсия не является однородной ($P \leq 0,05$), статистический анализ проводят посредством Н-критерия «суммы рангов» Крускала-Уолиса (тест K-W). Когда однофакторный анализ дисперсии показывает, что различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством критерия Даннетта (тест Даннета); и когда однофакторный анализ дисперсии показывает, что различия не являются статистически значимыми ($P > 0,05$), статистический анализ завершают. Когда Н-критерий «суммы рангов» Крускала-Уолиса показывает, что различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством U-критерия Манна - Уитни (тест M-W); и когда Н-критерий «суммы рангов» Крускала-Уолиса показывает, что различия не являются статистически значимыми ($P > 0,05$), статистический анализ завершают.

Показатели упорядоченной мультиклассификации анализировали посредством Н-критерия «суммы рангов» Крускала-Уолиса (тест K-W). Когда различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством критерия Даннетта и U-критерия «суммы рангов» Манна – Уитни (тест M-W). Показатели бинарной классификации анализировали

посредством точного критерия Фишера (EXACT). Когда различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия все еще сравнивают посредством точного критерия Фишера.

5 Сравнения межгрупповых различий проводили между каждой из групп дозирования, получающих соединение формулы (I), группы дозирования, получающей палоносетрон, и групп дозирования, получающих соединение формулы (I) + палоносетрон, и контрольной группы.

10 Все тесты представляли собой двусторонние тесты ($\alpha = 0,05$). Все анализы проводили в соответствии с половой принадлежностью. Массу тела, гематологию, биохимию крови, массу органа, коэффициент и тому подобное подвергали статистическому анализу, используя систему сбора данных PRISTIMA, версию 7.2.0. Данные по другим показателям подвергали статистическому анализу, используя Stata/IC 15.0 для Windows.

15 Данные наблюдения за общим состоянием, офтальмологического обследования, патологического исследования и т.п. подвергали описательному анализу.

Пример 3. 29-дневное тестирование токсичности у макак-ресусов

20 Соединение формулы (I) внутривенно инъецировали макакам-ресусам 1-2 раза в неделю на протяжении 29 дней подряд с последующим перерывом на восстановление на 4 недели. Наблюдали за свойством, степенью, зависимостями «доза-эффект» и «время-эффект» и обратимостью возможных токсических реакций, определяют целевой орган или ткань, на которые оказывается токсичное действие, и исследовали токсикокинетические характеристики данного средства для 25 понимания взаимосвязи между воздействующей дозой и токсикологическим результатом в исследовании токсичности.

Получение лекарственного средства

30 После пересчета на содержание требуемое количество соединения формулы (I) взвешивали и готовили для получения требуемой концентрации посредством добавления соответствующего количества 0,02 М фосфатного буфера (примерно pH 7,40). Композиция в низкой концентрации для введения может быть получена посредством разведения композиции в высокой концентрации для введения, и полученную композицию используют после фильтрования (через мембрану-фильтр PES). Условия временного хранения и срок годности для полученной композиции: 35 15-25°C, в защищенном от света месте, доступна в пределах 72 ч.

1.1. Введение

В тесте тестируемые низкие, средние и высокие дозы соединения формулы (I) составляли 2 мг/кг, 10 мг/кг и 50 мг/кг, соответственно. Кроме того, создавали контрольную группу, в которой таким же образом вводили равный объем носителя (0,02 М фосфатный буфер (примерно pH 7,40)).

5 Схема введения: внутривенная капельница, два раза в неделю на протяжении первых 4-х недель и один раз в неделю на протяжении 5-ой недели в общей сложности 9 раз, перерыв на 4 недели для восстановления после последнего введения, время введения: 30 мин/животное/время, и вводимый объем: 20 мл/кг.

10 1.2. Массу тела, потребление пищи, температуру тела (ректальную температуру), электрокардиограмму и кровяное давление определяли посредством наблюдения за активностью животных; гематологией, биохимией крови, стандартным исследованием мочи, офтальмологией, и проводили исследования мазков костного мозга; и анализировали соответствующие данные.

1.3. Токсикокинетика

15 Время отбора образцов:

Группы дозирования, получающие соединение формулы (I): перед первым и последним введениями, и через 2 мин (± 30 с), 0,25 ч (± 1 мин), 0,5 ч (± 1 мин), 2 ч (± 2 мин), 4 ч (± 2 мин), 8 ч (± 2 мин), 24 ч (± 5 мин) и 48 ч (± 1 мин) после окончания введения;

20 контрольная группа: перед первым и последним введениями, и через 0,25 ч (± 1 мин) послед введения.

Животные для отбора образцов: выжившие обезьяны в каждой из групп.

Место отбора образцов: подкожная вена нижней конечности или другие подходящие вены.

25 Количество отбираемых образцов: $\geq 0,4$ мл.

Антикоагулянт: ЭДТА-К2.

30 Обработка образцов крови: образец цельной крови помещали в холодильник перед центрифугированием и центрифугировали при 2-8°C в течение 10 мин при центробежной силе 1800×g. Выделяли две пробирки плазмы, откуда 50 мкл плазмы добавляли в одну пробирку, и оставшуюся плазму помещали в другую пробирку. Образец хранили при температуре ниже -66°C для выявления после внутренней упаковки.

1.4. Патологоанатомическое и гистопатологическое исследование

1.5. Статистический анализ

35 Количественные показатели, такие как масса тела, потребление пищи, температура тела, электрокардиограмма, кровяное давление, гематология,

биохимия крови, удельный вес мочи, процент каждой клеточной линии и количество мегакариоцитов, рассчитанное в соответствии с исследованием мазков костного мозга (при наличии), масса органа и коэффициент, были описаны как среднее \pm стандартное отклонение ($\bar{X} \pm SD$); и качественные показатели, такие как пролиферация ядерных клеток в соответствии с исследованием мазков костного мозга (при наличии) и стандартное исследование мочи (за исключением удельного веса мочи) (бинарная классификация, беспорядочная мультиклассификация и упорядоченная мультиклассификация), были описаны посредством подсчета частот. Когда количество образцов меньше чем 3, группу данных не подвергают статистическому сравнению.

Сначала количественные показатели подвергали испытанию однородности дисперсии посредством теста Левена. Когда дисперсия является однородной ($P > 0,05$), статистический тест проводят посредством однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA); и когда дисперсия не является однородной ($P \leq 0,05$), статистический анализ проводят посредством Н-критерия «суммы рангов» Крускала-Уолиса (тест K-W). Когда однофакторный анализ дисперсии показывает, что различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством критерия Даннетта (тест Даннета); и когда однофакторный дисперсионный анализ показывает, что различия не являются статистически значимыми ($P > 0,05$), статистический анализ завершают. Когда Н-критерий «суммы рангов» Крускала-Уолиса показывает, что различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством U-критерия Манна - Уитни (тест M-W); и когда Н-критерий «суммы рангов» Крускала-Уолиса показывает, что различия не являются статистически значимыми ($P > 0,05$), статистический анализ завершают.

Показатели упорядоченной мультиклассификации, такие как исследование мочи (прозрачность, содержание глюкозы, содержание билирубина, содержание кетоновых тел, наличие скрытой крови, значение pH, содержание белка, уробилиногена и лейкоцитов) и пролиферация ядерных клеток по мазку костного мозга, анализировали посредством Н-критерия «суммы рангов» Крускала-Уолиса (тест K-W). Когда различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$), межгрупповые различия сравнивают посредством U-критерия Манна – Уитни (тест M-W).

Показатели бинарной классификации (нитрит) и беспорядочной мультиклассификации (цвет мочи) анализировали посредством точного критерия Фишера (EXACT). Когда различия являются статистически значимыми ($P \leq 0,05$),

межгрупповые различия все еще сравнивают посредством точного критерия Фишера.

Сравнения межгрупповых различий проводили между каждой из групп дозирования, получающих соединение формулы (I), и контрольной группой.

5 Все тесты представляли собой двусторонние тесты $\alpha = 0,05$. Все анализы проводили в соответствии с половой принадлежностью. Массу тела, потребление пищи, гематологию, биохимию крови, массу органа, коэффициент и тому подобное подвергали статистическому анализу, используя систему сбора данных PRISTIMA, версию 7.2.0. Другие показатели статистически анализировали, используя Stata/IC
10 15.0 для Windows.

Данные наблюдения за общим состоянием, офтальмологического обследования, патологического исследования и т.п. подвергали описательному анализу.

15 Пример тестирования 1. Данные по растворимости в воде и химическая стабильность

1.1. Получение реагента

Реагент: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

1.2. Способ получения

20 Получение в соответствии с описанием для 100 мл выглядит следующим образом:

pH = 3,0: фосфатный буфер: 100 мл 2 ммоль/л NaH_2PO_4 , доведенный до pH 3,0 с помощью 0,1 М H_3PO_4 .

25 pH = 4,0: фосфатный буфер: 100 мл 2 ммоль/л NaH_2PO_4 , доведенный до pH 4,0 с помощью 0,1 М H_3PO_4 .

pH = 7,0: сверхчистая вода.

pH = 9,0: фосфатный буфер: 100 мл 2 ммоль/л Na_2HPO_4 , доведенный до pH 9,0 с помощью 0,1 М NaOH.

1.3. Способ тестирования

30 Соответствующее количество тестируемого соединения взвешивали, и раствор добавляли маленькими партиями. Смесь перемешивали до растворения тестируемого соединения. Определяли содержание соединения в растворе. Данные показаны в Таблице 1.

2.1. Тестирование стабильности соединения

35 1 мг образца взвешивали и добавляли во флакон. Флакон помещали в вакуумный пакет, который вакуумировали и помещали в контейнер, наполненный

аллохроическим силикагелем. Контейнер герметично закрывали. Параллельно получали две части. Соответствующие части получали в соответствии с моментами времени отбора образцов, и данные две части для каждого момента времени отбора образцов помещали в температуру 4°C и комнатную температуру, соответственно. Растворимость соединения формулы (I) определяли при разных значениях pH. Данные показаны в Таблице 1.

Таблица 1

pH	Растворимость	Насыщенная растворимость
7,4	26 мг/мл	19,8 мг/мл
9,0	28 мг/мл	21,4 мг/мл

10 Примечания: хорошие результаты: после хранения в течение 7 суток чистота уменьшена на меньше чем 0,5%; средние результаты: после хранения в течение 7 суток чистота уменьшена на 0,5%-2,0%; и плохие результаты: после хранения в течение 7 суток чистота уменьшается на больше чем 2,0%.

15 Пример тестирования 2. Гемолитический эффект

10 мл эритроцитов (RBC – от англ. red blood cell) случайным образом отбирали из яремной вены или центральной ушной артерии кролика (цельная кровь в ЭДТА), помещали в коническую колбу со стеклянными шариками и встряхивали в течение 10 мин для удаления фибриногена, что приводило к получению дефибринированной крови. Добавляли 10 объемов инъекции хлорида натрия. Смесь единообразно встряхивали и центрифугировали при 1500 об./мин. в течение 10 мин, и супернатант удаляли. Осажденные эритроциты 3 раза промывали инъекцией хлорида натрия в соответствии с указанным выше способом до тех пор, пока супернатант не казался красным. Полученные эритроциты получали в суспензии 2% (об./об.) с помощью инъекции хлорида натрия для последующего применения.

25 Тестируемый образец (соединение формулы (I)) растворяли в PBS (от англ. phosphate-buffer saline buffer - фосфатно-солевой буферный раствор) (pH 7,4 или pH 5), и раствор фильтровали и получали в концентрациях 0,4 мг/мл, 0,8 мг/мл, 1,2 мг/мл, 1,6 мг/мл и 2 мг/мл для последующего применения.

30 Определенное количество раствора тестируемого образца добавляли к указанному выше гемоглобину для тестирования в супернатанте.

Если раствор в пробирке является прозрачным и красным, и никакое количество клеток или маленькое количество эритроцитов остается на дне данной пробирки, это указывает на то, что произошел гемолиз; и если все эритроциты осажжены, и супернатант является бесцветным и прозрачным, это указывает на то, что никакого гемолиза не произошло. Если в растворе имеется коричневатокрасный или красноватокоричневый хлопьевидный осадок, и он не диспергируется даже после 3-5 раз аккуратного переворачивания, это указывает на то, что возможно произошла коагуляция эритроцитов. Дальнейшее наблюдение следует проводить под микроскопом, и если видно агрегирование эритроцитов, это указывает на то, что произошла коагуляция. Гемолитический эффект соединения, предложенного настоящим раскрытием, определяли данным способом.

Заключение: соединение формулы (I) демонстрирует отсутствие гемолитического эффекта даже при концентрации вплоть до 2 мг/мл.

Пример тестирования 3. Гемолитический эффект эмульсии ролапитанта
Эмульсию ролапитанта (состав: 4,4%-ный полиэтиленгликоль 15-гидроксистеарат, 1,1%-ный среднецепочечный триглицерид и 0,66%-ное соевое масло) получали, исходя из способа, описанного в CN102573475, и готовили посредством PBS до получения концентраций 0,18 мг/мл, 0,09 мг/мл, 0,045 мг/мл, 0,023 мг/мл, 0,011 мг/мл, 0,056 мг/мл и 0,028 мг/мл для последующего применения.

Гемолитический эффект определяли способом, описанным в Примере тестирования 2.

Заключение: Все концентрации эмульсии ролапитанта оказывают гемолитический эффект.

25

Пример тестирования 4: Фармакокинетический тест на яванских макаках

С яванскими макаками в качестве подопытных животных концентрации соединения формулы (I) в плазме в разные моменты времени после введения посредством инъекции определяли посредством ЖХ/МС/МС (жидкостная хроматография/масс-спектрометрия/масс-спектрометрия). Фармакокинетическую эффективность соединения исследовали у яванских макак, и оценивали его фармакокинетические характеристики.

Получение лекарственного средства

Определенное количество тестируемого соединения взвешивали и готовили в растворе при pH 4,0 с 20 ммоль/л дигидрофосфата натрия для дальнейшего применения.

35

1.1. Введение

Внутривенная капельница, время инъекции: примерно 30 мин, доза при введении: 3,54 мг/кг, концентрация при введении: 2 мг/мл, и вводимый объем: 5 мл/кг.

5 1.2. Операция

10 Производили забор крови из бедренной вены перед введением и через 5 мин, 0,25 ч, 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч, 10 ч и 24 ч после введения, примерно 0,6 мл для каждого образца. Образцы крови подвергали антикоагуляции посредством гепарина натрия и помещали на лед непосредственно после забора. Образцы крови помещали в маркированные центрифужные пробирки после забора, и плазму выделяли посредством центрифугирования (условия центрифугирования: 2200 g центробежной силы, 10 мин, 2-8°C).

15 Содержание соединения формулы (I) и ролапитанта в образцах плазмы определяли посредством ЖХ/МС/МС.

Таблица 2

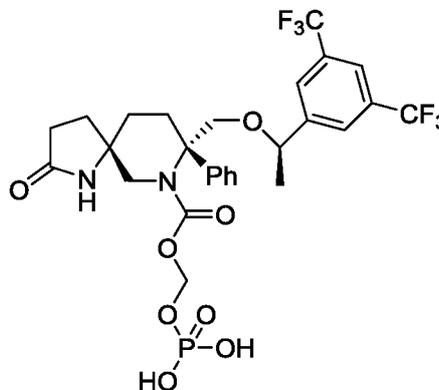
	Соединение	
	(нг/мл) ^a	(нг/мл) ^b
AUC _{0-24ч} (нг/мл*ч)	1434,78	8410,94
T _{1/2} (ч)	0,47	13,16
MRT 0-∞ (ч)	0,26	8,17

20 Примечание: фармакокинетические параметры соединения формулы (I) у яванских макак; и b: фармакокинетические параметры ролапитанта в соответствии с метаболизмом соединения формулы (I) у яванских макак.

Заключение: в исследовании фармакокинетики соединения формулы (I) у яванских макак большая часть соединений быстро превращается в активный метаболит ролапитант у яванских макак, который обладает хорошими фармакокинетическими свойствами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с антагонистом рецептора 5-HT₃ для получения лекарственного средства для предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты



I

2. Применение по п. 1, в котором антагонист рецептора 5-HT₃ выбран из группы, состоящей из гранисетрона, ондансетрона, рамосетрона, трописетрона, палонсетрона и доласетрона, предпочтительно, палонсетрона.

3. Применение по п. 1 или п. 2, где соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе 10-500 мг.

4. Применение по любому из п.п. 1-3, где антагонист рецептора 5-HT₃ вводят в дозе 0,075-1 мг.

5. Применение по любому из п.п. 1-4, где соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вводят с частотой, выбранной из группы, состоящей из одного раза в сутки, двух раз в сутки, трех раз в сутки, одного раза в неделю и одного раза в две недели.

6. Применение по любому из п.п. 1-5, где антагонист рецептора 5-HT₃ вводят с частотой, выбранной из группы, состоящей из одного раза в сутки, двух раз в сутки, трех раз в сутки, одного раза в неделю и одного раза в две недели.

7. Применение по любому из п.п. 1-6, где тошнота и/или рвота выбрана из группы, состоящей из тошноты и рвоты, вызванной химиотерапией, тошноты и рвоты, вызванной облучением, и послеоперационной тошноты и рвоты.

8. Применение по любому из п.п. 1-7, где тошнота и/или рвота выбрана из группы, состоящей из тошноты и/или рвоты во время острой фазы и тошноты и/или рвоты во время отсроченной фазы.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, антагонист рецептора 5-НТЗ и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

10. Фармацевтическая упаковка, в которую упакована композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антагонист рецептора 5-НТЗ.

11. Способ предупреждения или лечения тошноты и/или рвоты, включающий введение пациенту соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и антагониста рецептора 5-НТЗ.

12. Способ по п. 11, в котором соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и антагонист рецептора 5-НТЗ вводят после наступления события, вызывающего рвоту, или не больше чем за 1 или 2 ч до наступления события, вызывающего рвоту.