

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391893** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.09.06

(51) Int. Cl. *C07D 413/12* (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 413/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.02.03

(54) **КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ ГЛАЗ**

(31) **62/971,002; 63/010,212**

(32) **2020.02.06; 2020.04.15**

(33) **US**

(62) **202292269; 2021.02.03**

(71) Заявитель:
**ПЕРФЬЮС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)**

(72) Изобретатель:

**Гуркан Севджи, Дин Чжунли, Флойд
Дэвид (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к открытию того, что некоторые болезни глаз можно лечить с использованием кристаллических форм эдонентана. Конкретную кристаллическую форму эдонентана можно использовать отдельно или в сочетании с агентом, снижающим внутриглазное давление (ВГД), нейропротекторным агентом или агентом против VEGF. Использование кристаллических форм эдонентана отдельно или в сочетании с дополнительным средством обеспечивает усиление перфузии сетчатки или снижение ВГД при некоторых болезнях глаз и уменьшает повреждение клеток сетчатки.

A1

202391893

202391893

A1

КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ ГЛАЗ

СВЯЗАННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] По настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительным заявкам на патент США №№ 62/971002 и 63/010212, поданным, соответственно, 6 февраля 2020 г. и 15 апреля 2020 г.; все содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[02] Настоящее изобретение относится к области медицины и лечению заболевания глаз. Более конкретно, настоящее изобретение относится к применению некоторых композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, для лечения или улучшения состояния при глаукоме, диабетической ретинопатии (ДР), окклюзии вен сетчатки (ОВС) и ретинопатии недоношенных (РН).

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[03] Заболевания глаз оказывают огромное влияние на качество жизни человека и все же по-прежнему не поддаются эффективному лечению. По оценкам, в США с потерей зрения, глазными болезнями и нарушениями зрения связано ежегодное экономическое бремя в размере более 100 миллиардов долларов. Примеры изнурительных болезней глаз включают глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН).

[04] Глаукома представляет собой глазное заболевание, характеризующееся дефектами поля зрения и экскавацией диска зрительного нерва. Общеизвестно, что аномально высокое внутриглазное давление вредно для глаза, и есть четкие указания на то, что у пациентов с глаукомой это, вероятно, является наиболее важным физическим изменением, вызывающим дегенерацию сетчатки. В конечном счете, при отсутствии лечения со временем происходит постепенная потеря зрения. Однако патофизиологический механизм глаукомы до сих пор неизвестен.

[05] Существует три основных типа глаукомы: первичная, вторичная и врожденная. Первичная глаукома является наиболее распространенным типом и может быть разделена на открытоугольную и закрытоугольную глаукому. Первичная открытоугольная глаукома («ПОУГ»; например, глаукома нормального напряжения (НТГ)) является наиболее частым типом глаукомы, наблюдаемым в Соединенных Штатах. ПОУГ обычно выявляют на ранних стадиях при рутинном осмотре глаз. Первичная закрытоугольная глаукома, также называемая острой глаукомой, обычно имеет внезапное начало и характеризуется болью в глазах и нечеткостью зрения. Вторичная глаукома возникает как осложнение множества других состояний, таких как псевдоэксфолиативный синдром, травма, воспаление, генерализованное заболевание сосудов и диабет. Врожденная глаукома возникает из-за дефекта развития дренажного механизма глаза.

[06] Диабетическая ретинопатия (ДР) является наиболее частым осложнением сахарного диабета и ведущей причиной снижения остроты зрения и слепоты у населения

трудоспособного возраста в развитых странах. Частота ДР увеличивается по мере развития диабета. Таким образом, 90% больных СД 1 типа и 60% больных ДР 2 типа имеют ту или иную степень ДР после 20 лет развития диабета. Распространенность ДР в западных странах очень похожа и составляет около 30%, а в 10% случаев ДР находится на поздних стадиях, которые серьезно угрожают зрению.

[07] ДР возникает, когда изменения уровня глюкозы в крови вызывают изменения в кровеносных сосудах сетчатки. В некоторых случаях эти сосуды набухают (макулярный отек) и пропускают жидкость в заднюю часть глаза. В других случаях на поверхности сетчатки вырастают аномальные кровеносные сосуды. Если не лечить, ДР может постепенно стать более серьезной и прогрессировать от «фоновой ретинопатии» до серьезного нарушения зрения, и может привести к слепоте.

[08] Окклюзия вен сетчатки (ОВС) представляет собой сосудистое заболевание сетчатки, которое является одной из наиболее распространенных причин потери зрения во всем мире. В частности, это вторая по распространенности причина слепоты из-за заболевания сосудов сетчатки после диабетической ретинопатии. ОВС часто является результатом основных проблем со здоровьем (например, высокого кровяного давления, высокого уровня холестерина, диабета и других проблем со здоровьем). Существует два типа окклюзии вен сетчатки: окклюзия центральной вены сетчатки (ОЦВС) представляет собой закупорку основной вены сетчатки, а окклюзия ответвленной вены сетчатки (ООВС) представляет собой закупорку одной из более мелких ответвленных вен.

[09] В настоящее время нет способа разблокировать вены сетчатки, и принятые методы лечения направлены на решение проблем со здоровьем, связанных с окклюзией вен сетчатки. В некоторых глазах, у которых была окклюзия вен сетчатки, зрение может вернуться. Около 1/3 имеют некоторое улучшение, примерно 1/3 остаются прежними и примерно 1/3 постепенно улучшаются, но для определения окончательного результата может потребоваться год или больше. В некоторых случаях закупорка сосудов приводит к скоплению жидкости в сетчатке. В других случаях возникновение ишемии вызывает образование новых кровеносных сосудов. В настоящее время ОВС лечат интравитреальными инъекциями анти-VEGF-препаратов.

[10] Ретинопатии недоношенных (РН) может возникнуть из-за преждевременных родов. Аномальный негерметичный рост кровеносных сосудов (неоваскуляризация) в сетчатке возникает вторично по отношению к другим методам лечения недоношенности и часто может приводить к неонатальной слепоте. Во время беременности кровеносные сосуды растут из центра сетчатки развивающегося ребенка на 16-й неделе беременности матери, а затем разветвляются наружу и достигают краев сетчатки на 8-м месяце беременности. У детей, рожденных недоношенными, нормальный рост сосудов сетчатки является неполным и поэтому может быть более легко нарушен.

[11] Эндотелины («ЭТ») представляют собой семейство встречающихся в природе пептидов, идентифицированных как ЭТ-1, ЭТ-2 и ЭТ-3. Продуцируемые в основном в эндотелиальных клетках, играющие ключевую роль в сосудистом гомеостазе, ЭТ сужают

кровеносные сосуды и повышают кровяное давление в почках, влияя на гломерулярную гемодинамику, гомеостаз натрия и воды. При сверхэкспрессии ЭТ способствуют высокому кровяному давлению (гипертензии), сердечным заболеваниям, нарушениям в почках и, возможно, другим заболеваниям, таким как болезни глаз. См., например, Salvatore et al., J Ophthalmol. 2010, 2010: 354645.

[12] Антагонист рецептора эндотелина представляет собой фармакологический агент, который ингибирует рецептор(ы) эндотелина. Некоторые агенты ингибируют как рецептор эндотелина А, так и рецептор эндотелина В, а другие селективно ингибируют только один из двух рецепторов (например, антагонист рецептора эндотелина А). Было показано, что антагонисты рецепторов эндотелина снижают смертность и улучшают гемодинамику в экспериментальных моделях (например, при сердечной недостаточности).

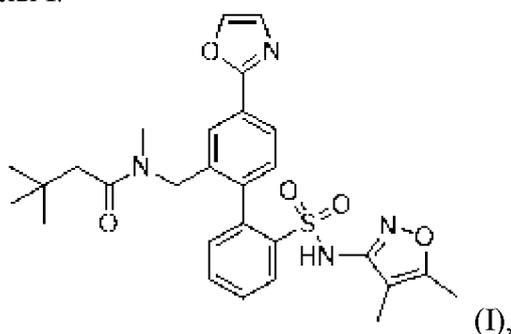
[13] Эдонентан (BMS-207940) является высокоселективным и очень мощным антагонистом рецептора эндотелина А. Эдонентан был разработан как аналог второго поколения после прекращения производства первого клинического кандидата, BMS-193884, который разрабатывался для лечения застойной сердечной недостаточности (CHF). К апрелю 2002 г. эдонентан изучался в фазе I испытаний, но его разработка была прекращена.

[14] Остается потребность в более эффективном снижении заболеваемости, лечении или ином улучшении состояния при глаукоме, ДР, ОВС и РН.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[15] Настоящее изобретение относится к способу применения некоторых композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, для лечения заболеваний глаз, выбранных из глаукомы, диабетической ретинопатии (ДР), окклюзии вен сетчатки (ОВС) и ретинопатии недоношенных (РН).

[16] В одном аспекте данное изобретение относится к твердой форме соединения формулы I:



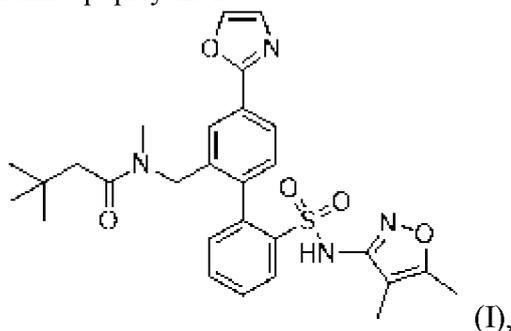
где указанная твердая форма представляет собой безводную кристаллическую форму (форма 4), имеющую порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика с точки зрения 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

[17] В некоторых вариантах твердой формы безводная кристаллическая форма 4 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

[18] В некоторых вариантах твердой формы безводная кристаллическая форма 4 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

[19] В некоторых вариантах твердой формы безводная кристаллическая форма 4 показывает T_m около 163°C по данным DSC анализа.

[20] В другом аспекте данное изобретение включает композицию, содержащую соединение формулы I:



где указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форма 4), имеющую порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика с точки зрения 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[21] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 95% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

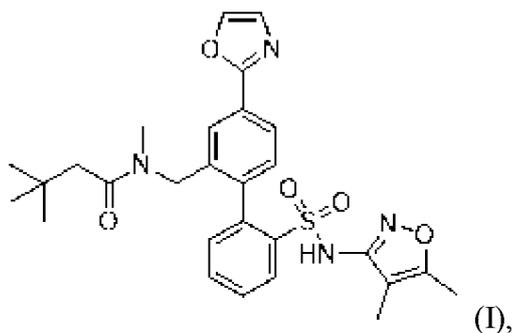
[22] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[23] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[24] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

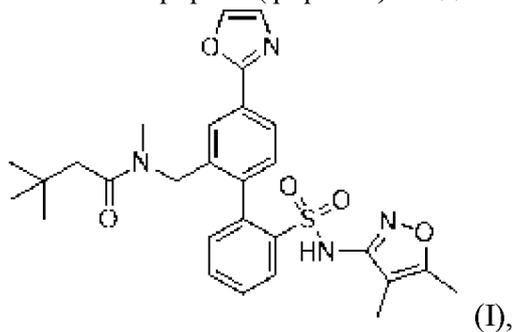
[25] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I находится на 99% по массе или более в кристаллической форме 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[26] Еще в объем данного изобретения входит способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I:



где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); указанное соединение находится в виде кристаллической формы (форма 4), где кристаллическая форма 4 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[27] Данное изобретение, кроме того, охватывает способ получения безводной кристаллической формы (форма 4) соединения формулы I:



где способ включает:

(a) перемешивание соединения формулы I в водном растворе, органическом растворителе или их смеси при температуре в диапазоне от около 40°C до около 120°C ;

(b) охлаждение полученного раствора до температуры в диапазоне от около 0°C до комнатной температуры (например, около 25°C) и, когда соединение находится в щелочном водном растворе, доведение значения pH в диапазоне от около 3 до около 7 (например, путем добавления HCl); и

(c) фильтрование образца, полученного таким образом, с получением кристаллической формы 4, где указанная кристаллическая форма 4 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

[28] В некоторых вариантах осуществления способа получения водный раствор представляет собой воду.

[29] В некоторых вариантах осуществления способа получения водный раствор представляет собой щелочной водный раствор. В некоторых вариантах осуществления изобретения значение рН щелочного водного раствора составляет 8 или выше.

[30] В некоторых вариантах осуществления способа получения водный раствор основания представляет собой водный раствор гидроксида калия или карбоната калия.

[31] В некоторых вариантах осуществления способа получения органический растворитель представляет собой водорастворимый органический растворитель. В некоторых вариантах органический растворитель представляет собой тетрагидрофуран или изопропанол.

[32] В некоторых вариантах осуществления способа получения температура перемешивания находится в диапазоне от около 80°C до около 120°C (например, от около 80°C до около 90°C, от около 90°C до около 100°C, от около 100°C до около 110°C или от около 110°C до около 120°C).

[33] В некоторых вариантах осуществления способа получения температура перемешивания находится в диапазоне от около 40°C до около 80°C (например, от около 40°C до около 50°C, от около 50°C до около 60°C, от около 60°C до около 70°C или от около 70°C до около 80°C).

[34] В некоторых вариантах осуществления способа получения перемешивание проводят в течение от около 20 часов до около 50 часов (например, от около 20 часов до около 30 часов, от около 30 часов до около 40 часов или от около 40 часов до около 50 часов).

[35] В некоторых вариантах осуществления способа получения на стадии перемешивания образуется взвесь соединения формулы I.

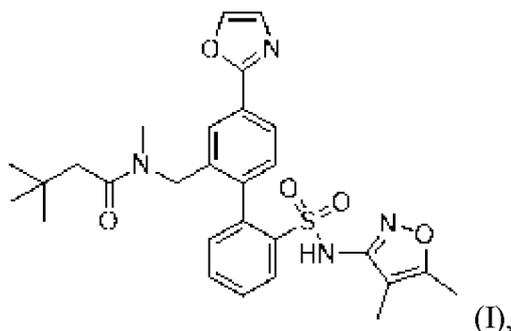
[36] В некоторых вариантах осуществления способа получения способ дополнительно включает затравку кристаллической формой 4 и выдерживание полученного раствора в течение около 2 часов.

[37] В некоторых вариантах осуществления способа получения охлаждение проводят при температуре около 5°C в течение около 15 часов.

[38] В некоторых вариантах осуществления способа получения значение рН щелочного водного раствора доводят до диапазона от около 3 до около 4. В некоторых вариантах осуществления способа получения значение рН щелочного водного раствора доводят до диапазона от около 3 до около 5. В некоторых вариантах осуществления способа получения значение рН щелочного водного раствора доводят до диапазона от около 3 до около 6. В некоторых вариантах осуществления способа получения значение рН щелочного водного раствора доводят до от около 5,5 до около 6. В некоторых вариантах осуществления способа получения значение рН щелочного водного раствора доводят до от около 6 до около 7.

[39] Также в объем настоящего изобретения входит способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией,

содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I, то есть эдонентана:



где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); указанное соединение выбрана из группы, включающей безводную кристаллическую форму (форму 1); моногидратную кристаллическую форму (форму 2); и безводную кристаллическую форму (форму 3), где:

(i) безводная кристаллическая форма 1 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$, $15,1\pm 0,2^\circ$ и $17,3\pm 0,2^\circ$; и указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

(ii) моногидратная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$; и указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

(iii) безводная кристаллическая форма 3 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $7,8\pm 0,2^\circ$, $9,0\pm 0,2^\circ$, $11,6\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$; и указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[40] В некоторых вариантах осуществления контактирование включает введение композиции для местного применения на поверхность глаза или его часть. В других вариантах осуществления контактирование включает инъекцию композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, в глаз в целом или в конкретную его область.

[41] В некоторых вариантах осуществления изобретения заболеванием глаз является глаукома. В дополнительных вариантах осуществления терапевтическую эффективность при лечении глаукомы определяют путем обнаружения снижения внутриглазного давления или снижения скорости повреждения зрительного нерва/истончения слоя нервных волокон сетчатки, потери контрастной чувствительности или поля зрения в количестве, достаточном для облегчения или предотвращения

поражение зрительного нерва. В других вариантах осуществления терапевтическую эффективность лечения глаукомы определяют путем измерения улучшения перфузии сетчатки, диска зрительного нерва или ткани.

[42] В некоторых вариантах осуществления для лечения глаукомы схема дополнительно включает добавление терапевтически эффективного количества агента, снижающего внутриглазное давление (ВГД), или нейропротекторного агента, или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеперечисленных. В некоторых вариантах осуществления изобретения средство, снижающее ВГД, выбрано из группы, включающей простагландины (такие как латанопрост или травопрост), бета-блокаторы (такие как тимолол или бетаксолол), агонисты альфа-адренергических рецепторов (такие как бримонидин, апраклонидин), ингибиторы карбоангидразы (такие как дорзоламид или бринзоламид), ингибиторы Rho-киназы (такие как нетарсудил) и миотические или холинергические средства (такие как пилокарпин). В некоторых вариантах осуществления изобретения нейропротекторный агент выбран из группы, включающей антиапоптотические агенты (такие как ингибитор каспазы-2) и нейротрофические факторы (такие как цилиарный нейротрофический фактор).

[43] В некоторых вариантах осуществления изобретения болезнь глаз представляет собой диабетическую ретинопатию (ДР). В дополнительных вариантах осуществления изобретения терапевтическая эффективность лечения ДР определяется снижением неоваскуляризации сетчатки, оценки тяжести диабетической ретинопатии и нейродегенерации, вызванной диабетом. В других вариантах осуществления изобретения терапевтическую эффективность лечения ДР определяют путем измерения улучшения перфузии сетчатки или хориоидеи.

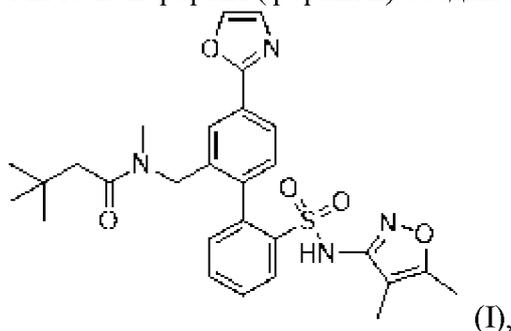
[44] В некоторых вариантах осуществления изобретения заболевание представляет собой окклюзию вен сетчатки (ОВС). В дополнительных вариантах осуществления терапевтическую эффективность лечения ОВС определяют путем измерения улучшения тканевой перфузии, уменьшения воспаления или комбинации вышеперечисленного.

[45] В некоторых вариантах осуществления изобретения болезнь глаз представляет собой ретинопатию недоношенных (РН). В дополнительных вариантах осуществления терапевтическую эффективность лечения РН определяют путем измерения улучшения перфузии сетчатки и уменьшения аномальной неоваскуляризации.

[46] В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая композиция содержит кристаллическую форму эдонентана в дозе в диапазоне между около 1 мкг и около 5 мг (например, между около 1 мкг и около 10 мкг, между около 10 мкг и около 50 мкг, между около 50 мкг и около 100 мкг, между около 100 мкг и около 500 мкг, между около 500 мкг и около 1 мг, между около 1 мг и около 1,5 мг, между около 1,5 мг и около 2 мг, между около 2 мг и 2,5 мг, между около 2,5 мг и около 3 мг, между около 3 мг и 3,5 мг, между около 3,5 мг и 4 мг, между около 4 мг и 4,5 мг и между около 4,5 мг и 5 мг). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая композиция содержит кристаллическую форму эдонентана в дозе в диапазоне между около 10 мкг и около 3 мг

(например между около 10 мкг и около 100 мкг, между около 10 мкг и около 500 мкг, между около 10 мкг и около 1 мг, между около 10 мкг и около 2 мг, около 10 мкг, около 25 мкг, около 50 мкг, около 75 мкг, около 100 мкг, около 125 мкг, около 150 мкг, около 175 мкг, около 200 мкг, около 250 мкг, около 300 мкг, около 350 мкг, около 400 мкг, около 450 мкг, около 500 мкг, около 550 мкг, около 600 мкг, около 650 мкг, около 700 мкг, около 750 мкг, около 800 мкг, около 850 мкг, около 900 мкг, около 950 мкг, около 1 мг, около 1,25 мг, около 1,5 мг, около 1,75 мг, около 2 мг, около 2,25 мг, около 2,5 мг, около 2,75 мг, около 3 мг). В некоторых вариантах осуществления изобретения вводимая композиция содержит кристаллическую форму эдонентана в дозе в диапазоне между около 10 мкг и около 1 мг. В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию, описанную в настоящем документе, вводят в виде разовой лекарственной формы. В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию, описанную в настоящем документе, вводят в виде нескольких лекарственных форм.

[47] Настоящее изобретение относится также к способу получения моногидратной кристаллической формы (формы 2) соединения формулы I:



где способ включает:

- (a) получение взвеси соединения формулы I (например, аморфная форма) в водной среде (например, воде) при температуре в диапазоне от около 15°C до около 35°C в течение заданного периода времени (например, около 15 часов) для получения образца; и
- (b) фильтрование образца, полученного таким образом, с получением кристаллической формы 2,

где указанная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$.

[48] В некоторых вариантах осуществления способа получения водной средой является вода.

[49] В некоторых вариантах осуществления способа получения заданная продолжительность времени составляет около 15 часов.

[50] Дополнительные признаки и преимущества способа, являющегося объектом изобретения, будут изложены в описании ниже и частично будут очевидны из описания или могут быть изучены на практике при использовании способа, являющегося объектом изобретения. Преимущества способа, являющегося объектом изобретения, будут

реализованы и достигнуты за счет структуры, особо указанной в письменном описании и вариантах осуществления согласно настоящему документу.

[51] Подробности одного или нескольких вариантов осуществления изобретения изложены в описании ниже. Другие признаки, цели и преимущества изобретения будут очевидны из приведенных далее чертежей, описания и формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[52] На ФИГ. 1 представлен пример порошковой рентгенограммы форм 1-4.

[53] На ФИГ. 2 представлен пример порошковой рентгенограммы формы 1.

[54] На ФИГ. 3 представлен пример порошковой рентгенограммы формы 2.

[55] На ФИГ. 4 представлен пример порошковой рентгенограммы формы 3.

[56] На ФИГ. 5 представлен пример порошковой рентгенограммы формы 4.

[57] На ФИГ. 6 представлен пример кривой DSC формы 1.

[58] На ФИГ. 7 представлен пример кривой DSC формы 2.

[59] На ФИГ. 8 представлен пример кривой DSC формы 3.

[60] На ФИГ. 9 представлен пример кривой DSC формы 4.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[61] Настоящее изобретение основано на открытии того, что некоторые композиции, содержащие кристаллические формы эдонентана, можно использовать для профилактики, лечения или иного улучшения состояния при болезнях глаз, включая, но не ограничиваясь ими, глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН). Изобретение дополнительно описано ниже.

[62] Как указано в разделе СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ, настоящее изобретение охватывает способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I, указанного выше, где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форму 1), где безводная кристаллическая форма 1 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$, $15,1\pm 0,2^\circ$ и $17,3\pm 0,2^\circ$; и соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[63] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 1 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

[64] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 1 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

[65] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 1 имеет T_m около 151°C по данным DSC анализа.

[66] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 1 имеет растворимость в фосфатном буфере около 264 мкг/мл при около pH 7.

[67] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 95% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[68] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[69] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[70] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[71] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[72] Данное изобретение охватывает также способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I, где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); указанное соединение находится в виде моногидратной кристаллической формы (форма 2), где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$; и соединение формулы I на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[73] В некоторых вариантах осуществления изобретения моногидратная кристаллическая форма кристаллическая форма 2 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$ и $9,6\pm 0,2^\circ$.

[74] В некоторых вариантах осуществления изобретения моногидратная кристаллическая форма кристаллическая форма 2 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$ и $22,9\pm 0,2^\circ$.

[75] В некоторых вариантах осуществления изобретения моногидратная кристаллическая форма кристаллическая форма 2 имеет T_m около 122°C по данным DSC анализа.

[76] В некоторых вариантах осуществления изобретения моногидратная кристаллическая форма кристаллическая форма 2 имеет растворимость в фосфатном буфере около 35 мкг/мл при около pH 7.

[77] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 95% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[78] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[79] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[80] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[81] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[82] Данное изобретение охватывает, кроме того, способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I, где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форма 3), где безводная кристаллическая форма 3 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $7,8\pm 0,2^\circ$, $9,0\pm 0,2^\circ$, $11,6\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$; и соединение формулы I на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[83] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 3 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$, $7,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$.

[84] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 3 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $7,8\pm 0,2^\circ$.

[85] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 3 имеет T_m около 162°C по данным DSC анализа.

[86] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 3 имеет растворимость в фосфатном буфере около 251 мкг/мл при около pH 7.

[87] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 95% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[88] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[89] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[90] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[91] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I находится на 99% по массе или более в кристаллической форме 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[92] Еще данным изобретением охватывается способ лечения глазного заболевания, включающий: контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I, где болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН); указанное соединение находится в виде кристаллической формы (формы 4), где кристаллическая форма 4 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и соединение формулы I на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[93] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 4 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

[94] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 4 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством углов дифракции (2θ): $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

[95] В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическая форма 4 имеет следующую порошковую рентгенограмму, выраженную посредством угла дифракции 2θ :

Угол [2θ]
5,6
11,4
17,7

19,3
21,1
21,9

[96] В некоторых вариантах осуществления изобретения безводная кристаллическая форма 4 имеет T_m около 163°C по данным DSC анализа.

[97] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 95% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[98] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[99] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[100] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[101] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I находится на 99% по массе или более в кристаллической форме 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

[102] В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтическую эффективность описанного выше лечения определяют путем (i) обнаружения снижения внутриглазного давления или снижения скорости повреждения зрительного нерва в количестве, достаточном для облегчения или предотвращения повреждения зрительного нерва; (ii) оценки степени улучшения остроты зрения или поля зрения; (iii) измерения снижения нейродегенерации сетчатки, вызванной диабетом; (iv) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки или (v) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки, уменьшения воспаления или их комбинации.

[103] Способы по настоящему изобретению включают контактирование с тканью глаза (местно или внутриглазно) или введение терапевтически эффективного количества композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана.

[104] Способы получения эдонентана (например, аморфного эдонентана) хорошо известны специалистам в данной области. Подходящие способы описаны, например, в патенте США № 6043265 и международной публикации № 2002/32884. Эдонентан имеет химическое название N-[[2'-[[[(4,5-диметил-3-изоксалил)амино]-сульфонил]-4-(2-оксазолил)[1,1'-бифенил]-2-ил]метил]-N,3,3-триметилбутанамид (молекулярная масса 536,6 г/моль) и структуру формулы I, показанную выше.

Кристаллические формы эдонентана

[105] Кристаллические формы эдонентана, описанные в настоящем документе, могут быть значительно более стабильными по сравнению с аморфной формой эдонентана. Например, описанная кристаллическая форма (например, форма 4) может храниться в практических и экономичных условиях хранения, сохраняя при этом физические свойства, чтобы ее можно было изготовить в виде лекарственной формы. В другой группе примеров описанную кристаллическую форму (например, форму 1, форму 2, форму 3) преобразуют в описанную кристаллическую форму (например, форму 4). Например, нагревание суспензии кристаллической формы 1 примерно в 20 мл смеси изопропанола и воды (1:2) при температуре 80°C в течение 24 часов, а затем охлаждение и фильтрование образца, полученного из раствора, дает кристаллическую форму 4. В другом примере перемешивание аморфной формы соединения формулы I в 20 мл воды при температуре 25°C в течение 15 часов дает кристаллическую форму 2, а затем последующее нагревание кристаллической формы 2 при температуре 100°C в течение 40 часов с последующим фильтрованием дает кристаллическую форму 4. В еще одном примере нагревание суспензии безводной кристаллической формы 3 в 30 мл воды при температуре 80°C в течение 40 часов с последующим охлаждением и фильтрованием образца, полученного из раствора, дает кристаллическую форму 4. В одном варианте осуществления кристаллическая Форма 4 является более стабильной (например, термодинамически), чем некоторые другие кристаллические формы. В одном варианте осуществления кристаллическая форма 4 является более стабильной (например, термодинамически), чем кристаллическая форма, выбранная из группы, включающей кристаллическую форму 1, кристаллическую форму 2 и кристаллическую форму 3. В одном варианте осуществления изобретения описанная кристаллическая форма может иметь повышенную химическую и/или физическую стабильность, например, при включении в фармацевтический состав, по сравнению, например, с аморфной формой. В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма представляет собой кристаллическую форму 4.

[106] Как используется в настоящем документе, термин «аморфный» относится к твердому веществу, не имеющему дальнего порядка в расположении его молекул. Аморфные твердые тела обычно представляют собой переохлажденные жидкости, в которых молекулы расположены случайным образом, так что нет четко определенного расположения, например, молекулярной упаковки, и нет дальнего порядка. Аморфные твердые тела, как правило, изотропны, то есть проявляют одинаковые свойства во всех направлениях и не имеют конкретных температур плавления. Например, аморфное вещество представляет собой твердое вещество, не имеющее резкого характерного кристаллического пика(ов) на порошковой рентгеновской дифрактограмме (XRPD) (то есть не является кристаллическим, как определено с помощью XRPD). Вместо этого на его рентгенограмме появляются один или несколько широких пиков (например, ореолов).

[107] Рассматриваются гидратные формы кристаллического эдонентана, например, эдонентан·(H₂O)_m, где m представляет собой дробное или целое число от около 0 до около

4, включительно. Например, в настоящем документе рассматриваются ангидратные или моногидратные формы кристаллического эдонентана. В одном варианте раскрытая кристаллическая форма эдонентана может иметь содержание воды около от 1 до 10% по массе (например, от 3 до 9% или от 5 до 8% по массе).

[108] Ниже представлен общий способ получения кристаллической формы 1 или кристаллической формы 2: аморфный (сырой) эдонентан растворяют в изопропиловом спирте (ИПС). Раствор фильтруют и фильтр промывают небольшим количеством ИПС. Полученный раствор нагревают до температуры 60°C, при энергичном перемешивании добавляют по каплям теплую воду и раствор перемешивают при той же температуре в течение 1-2 часов. Раствор медленно охлаждают до комнатной температуры с получением кристаллической формы 1 или формы 2 в зависимости от соотношения ИПС и воды. Альтернативно, в предпочтительном способе аморфный (неочищенный) эдонентан суспендируют в 20 мл воды при температуре 25°C в течение 15 часов, а затем фильтруют с получением кристаллической формы 2.

[109] Далее представлен общий способ получения кристаллической формы 3: аморфный (сырой) эдонентан растворяют в этилацетате (ЭА). Полученный раствор фильтруют и нагревают до температуры 50-60°C. При интенсивном перемешивании по каплям добавляют гексан. Добавляют еще ЭА для осветления раствора с последующим перемешиванием при той же температуре в течение 1-2 часов. Раствор медленно охлаждают до комнатной температуры с получением кристаллической формы 3.

[110] Далее представлен общий способ получения кристаллической формы 4: аморфный (неочищенный) эдонентан добавляют к смеси растворителей, состоящей из органического растворителя (например, тетрагидрофурана) и воды. Полученную смесь перемешивают при повышенной температуре, охлаждают и фильтруют, получая форму 4. Альтернативно, аморфный эдонентан растворяют в щелочном водном растворе (например, водном растворе гидроксида калия или карбоната калия). Полученный раствор нагревают до температуры 50-60°C, фильтруют теплым и подкисляют кислотой (например, HCl). Затем полученную смесь перемешивают, охлаждают и фильтруют с получением формы 4. Альтернативно, в предпочтительном способе аморфный (неочищенный) эдонентан растворяют в 8 мл изопропанола при температуре 60°C. Полученный раствор охлаждают до температуры 57°C, а затем добавляют небольшой кристалл кристаллической формы 4. Через 2 часа раствор охлаждают до температуры 5°C, выдерживают в течение 15 часов и фильтруют, получая кристаллическую форму 4.

Глазные болезни

[111] Способы по настоящему изобретению включают применение композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, описанные выше, для лечения и улучшения состояния при глазном заболевании, выбранном из глаукомы, диабетической ретинопатии (ДР), окклюзии вен сетчатки (ОВС) и ретинопатии недоношенных (РН), как описано далее.

Глаукома

[112] При лечении глаукомы с использованием композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, описанные в настоящем документе, «терапевтически эффективное количество» можно определить путем оценки улучшения кровотока в сетчатке (retinal blood flow, RBF) по сравнению с тем, что может быть достигнуто при стандартном лечении (снижение внутриглазного давления (ВГД)). Для индикации глаукомы в качестве прогноза фармакодинамического (ФД) ответа у людей можно использовать улучшение кровотока в модели глаза здорового кролика. С целью оценки взаимосвязи фармакокинетики/фармакодинамики глаза для соединений, направленных на болезни глаз человека, обычно используют кроликов из-за анатомического и функционального сходства глаз кролика и человека. Ранее было показано, что интравитреальное введение ЭТ-1 в глаз кролика вызывает значительное сужение сосудов и повреждение зрительного нерва (Sasaoka M. et al, Exp Eye Res 2006; Sugiyama T. et al, Arch Ophthalmol 2009). Для целевого фармакодинамического ответа у пациентов с глаукомой, у которых наблюдается повышение уровня ЭТ-1 в плазме и водянистой влаге, в этой модели может быть смоделирован фармакодинамический ответ, основанный на устранении нарушения перфузии, вызванной интравитреальным введением ЭТ-1, (Li S. et al, Journal of Ophthalmology 2016).

[113] Другими примерами соответствующих моделей глаукомы на животных являются крысиная модель Моррисона с хронически повышенным ВГД и лазерно-индуцированная модель глаукомы не-человеческих приматов (НЧП). Глаукома в модели Моррисона у крыс индуцируется устойчивым повышением ВГД при введении гипертонического раствора через эписклеральные вены. В модели лазерно-индуцированной глаукомы НЧП после устойчивого повышения ВГД кровотоки в головке зрительного нерва снижаются (Wang L. et al, Invest Ophthalmol Vis Sci 2012). Кроме того, было показано, что снижение кровотока в головке зрительного нерва коррелирует с долгосрочными структурными изменениями в зрительном нерве (Cull G. et al, Invest Ophthalmol Vis Sci 2013). В модели лазерно-индуцированной глаукомы НЧП эдонентан способен улучшать кровотоки в головке зрительного нерва дозозависимым образом.

[114] Эффективность в описанных выше моделях глаукомы определяется как снижение ВГД, улучшение кровотока в головке зрительного нерва или сетчатки по сравнению с исходным уровнем, предотвращение или замедление прогрессирования структурных нейродегенеративных изменений, таких как толщина слоя нервных волокон сетчатки, измеряемая с помощью оптической когерентной томографии (ОСТ) или подсчет ганглиозных клеток сетчатки на плоском снимке, а также как функциональные изменения, такие как электроретинографическая (ЭРГ) или контрастная чувствительность после обработки композицией, содержащей кристаллические формы эдонентана.

[115] Считается, что влияние композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, на кровотоки в сетчатке можно оценить по *радиусу кровеносного сосуда (r)* согласно закону Пуазейля. Увеличение в (*r*) с антагонистом эндотелина будет вызывать

более выраженное увеличение кровотока, чем то, которое может быть достигнуто за счет увеличения перфузионного давления за счет снижения ВГД:

$$\text{Кровоток} = (\text{перфузионное давление} \times \pi r^4) / (8\eta l)$$

где

l : длина кровеносного сосуда

r : радиус кровеносного сосуда

η : вязкость крови

перфузионное давление: среднее артериальное давление-ВГД

Кроме того, композиции, содержащие кристаллические формы эдонентана, могут снижать внутриглазное давление и/или предотвращать гибель RGC посредством механизмов, не зависящих от улучшения перфузии тканей сетчатки/диска зрительного нерва. Соответственно, при использовании композиций, содержащих некоторые кристаллические формы эдонентана (например, форму 4), можно изменить один (r) и/или несколько (ВГД) из вышеуказанных параметров для улучшения RBF, тем самым достигая терапевтической эффективности при лечении глаукомы.

[116] В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение пациентов с глаукомой начинают сразу же после постановки диагноза. В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят местно в заднюю часть глаза с использованием интравитреальной, супрахориоидальной или имплантатной платформы доставки с частотой от 3 до 12 (например, каждые 3-6 или каждые 4-6) месяцев. В некоторых вариантах лечения глаукомы композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят в форме для местного применения (например, в виде глазных капель).

Диабетическая ретинопатия (ДР)

[117] Диабет может вызывать серьезные поздние осложнения, которые классифицируются как микроангиопатические (ретинопатия, невропатия и диабетическая нефропатия) и макроангиопатические (сердечно-сосудистые заболевания). Диабетическая ретинопатия возникает в результате поражения мелких кровеносных сосудов и нейронов сетчатки. Самые ранние изменения, приводящие к диабетической ретинопатии, включают сужение артерий сетчатки, связанное со снижением ретинального кровотока; дисфункцию нейронов внутренней сетчатки с последующим на поздних стадиях изменением функции наружной сетчатки, связанным с малозаметными изменениями зрительной функции; дисфункцию гематоретинального барьера, защищающего сетчатку от многих веществ, содержащихся в крови (в том числе токсинов и иммунных клеток), приводящую к утечке компонентов крови в нейропилу сетчатки. Позднее базальная мембрана сосудов сетчатки утолщается, капилляры дегенерируют и теряют клетки, особенно перициты и гладкомышечные клетки сосудов. Это приводит к потере кровотока и прогрессирующей ишемии, а также к микроскопическим аневризмам, которые выглядят как баллонообразные структуры, выступающие из стенок капилляров, которые рекрутируют

воспалительные клетки; и приводит к прогрессирующей дисфункции и дегенерации нейронов и глиальных клеток сетчатки.

[118] Ишемия и окислительное повреждение, наблюдаемые при ДР, нарушают кровоток и ишемию тканей, которые, как обнаружили авторы изобретения, могут быть устранены с помощью композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана. Ожидается, что при показаниях к ДР улучшение перфузии сетчатки уменьшит гипоксию и подавит активацию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), что приведет к замедлению сосудистых пролиферативных изменений, неоваскуляризации и/или осложнений макулярного отека.

[119] В качестве суррогатной модели изменений ишемической ретинопатии, наблюдаемых при ДР, можно использовать доклиническую модель ретинопатии недоношенных (РН). Кислород-индуцированная ретинопатия у мышей представляет собой воспроизводимую и поддающуюся количественному определению модель пролиферативной неоваскуляризации сетчатки, подходящую для изучения патогенеза и терапевтического вмешательства при неоваскуляризации сетчатки при РН и других васкулопатиях, включая ДР. Модель индуцируется воздействием на однонедельных мышей C57BL/6J 75%-ным кислородом в течение 5 дней, а затем комнатным воздухом, как описано ранее (Smith LEH et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 1994). Эффективность этой доклинической модели РН можно оценить путем изучения гипоксии сетчатки и неоваскуляризации. Текущий стандарт лечения ДР включает терапию анти-VEGF, которая направлена только на прогрессирующие сосудистые осложнения заболевания. В некоторых вариантах осуществления лечение пациентов с ДР начинают на непролиферативных стадиях заболевания. В некоторых вариантах осуществления композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят местно в заднюю часть глаза с использованием интравитреальной, супрахориоидальной или имплантатной платформы доставки с частотой от 3 до 12 (например, каждые 3-6 или каждые 4-6) месяцев. В некоторых вариантах лечения ДР композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят в форме для местного применения (например, в виде глазных капель).

Окклюзия вен сетчатки (ОВС)

[120] Окклюзии вен сетчатки (ОВС), сосудистое заболевание сетчатки, в настоящее время лечится интравитреальными инъекциями анти-VEGF препаратов для подавления фактора роста, вызывающего отек желтого пятна, и кортикостероидами для борьбы с воспалительными компонентами, которые приводят к отеку. Для лечения ОВС крайне желательно использовать композиции, содержащие кристаллические формы эдонентана, за счет улучшения тканевой перфузии и уменьшения воспаления при одновременном предотвращении нежелательных эффектов системной иммуносупрессии и/или местных побочных эффектов стероидов.

[121] ОВС в настоящее время лечат интравитреальными стероидами и анти-VEGF препаратами. Авторы изобретения предполагают, что улучшение перфузии

существующих сосудов уменьшит степень макулярного отека и активацию VEGF, а также последующие неадекватные изменения, которые проявляются как ОВС. Для проверки эффективности можно использовать доклиническую модель ишемической ретинопатии на мышах. Кислород-индуцированная ретинопатия у мышей представляет собой воспроизводимую и поддающуюся количественному определению модель пролиферативной неоваскуляризации сетчатки, подходящую для изучения патогенеза и терапевтического вмешательства при неоваскуляризации сетчатки при многих ишемических ретинопатиях, включая ОВС. Модель индуцируют воздействием на однедельных мышей C57BL/6J 75%-ным кислородом в течение 5 дней, а затем комнатным воздухом, как описано ранее (Smith LEH et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 1994). Эффективность этой доклинической модели ишемической ретинопатии можно оценить путем изучения гипоксии сетчатки и неоваскуляризации. «Терапевтически эффективное количество» композиции, содержащей кристаллическую форму эдонентана, описанную в настоящем документе, может быть дополнением к текущему стандарту лечения за счет улучшения тканевой перфузии и уменьшения воспаления, опосредованного ЭТ-1, при этом избегая нежелательных эффектов местных стероидов. В некоторых вариантах лечения ОВС композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят местно в заднюю часть глаза с использованием платформы для введения в стекловидное тело, супрахориоидеи или имплантата. Частота введения будет варьироваться в зависимости от течения заболевания пациента и реакции на терапию. В некоторых вариантах лечения ОВС композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят в форме для местного применения (например, в виде глазных капель).

Ретинопатия недоношенных (РН)

[122] Ретинопатия недоношенных (РН) представляет собой вазопрлиферативное заболевание сетчатки, поражающее недоношенных детей. РН продолжает оставаться основной предотвращаемой причиной слепоты и нарушений зрения во всем мире. С улучшением перинатального ухода улучшилась выживаемость умеренно недоношенных детей, и при ограниченных ресурсах для доставки кислорода и недостаточном контроле у более зрелых недоношенных детей развивается тяжелая форма РН в развивающихся странах.

[123] Патофизиология РН характеризуется двумя фазами. РН I фазы обусловлена вазооблитерацией, начинающейся сразу после рождения, вторичной по отношению к заметному снижению фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1). Фаза II начинается примерно в 33-недельном постменструальном возрасте (ПМВ). Во время этой фазы уровни VEGF увеличиваются, особенно при наличии гипоксии сетчатки с увеличением метаболизма сетчатки и потребности в кислороде, что приводит к аномальной вазопрлиферации. На поздних стадиях РН для защиты центрального зрения и предотвращения отслойки сетчатки используются лазерная абляция аваскулярной сетчатки, протокол раннего лечения РН (ЕТРН), интравитреальное введение анти-VEGF антител (например, бевацизумаба) и витрэктомия. Долгосрочные

осложнения, такие как рефрактерные ошибки, рецидив РН и риск отслойки сетчатки, требуют постоянного наблюдения у офтальмолога в подростковом возрасте и позже.

[124] РН вызывается тяжелой ишемией из-за недоразвития сосудов сетчатки вследствие преждевременных родов. Следовательно, в качестве аспекта изобретения считается, что улучшение перфузии существующих сосудов с помощью композиций, содержащих кристаллические формы эдонентана, уменьшит степень ишемии и активацию VEGF, а также последующие неадаптивные изменения, которые проявляются в виде РН. Для проверки эффективности можно использовать доклиническую модель РН на мышах. Кислород-индуцированная ретинопатия у мышей представляет собой воспроизводимую и поддающуюся количественному определению модель пролиферативной неоваскуляризации сетчатки, подходящую для изучения патогенеза и терапевтического вмешательства при неоваскуляризации сетчатки при РН. Модель индуцируется воздействием на однонедельных мышей C57BL/6J 75%-ным кислородом в течение 5 дней, а затем комнатным воздухом, как описано ранее (Smith LEH et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 1994). Эффективность этой доклинической модели РН можно оценить путем изучения гипоксии сетчатки и неоваскуляризации. «Терапевтически эффективное количество» композиции, содержащей кристаллическую форму эдонентана, как описано в настоящем документе, будет добавлено к текущему стандарту лечения за счет улучшения перфузии тканей и уменьшения патологической неоваскуляризации, индуцированной VEGF. В некоторых вариантах осуществления изобретения лекарственное средство вводят местно в заднюю часть глаза с использованием интравитреальной, супрахориоидальной или имплантатной платформы для доставки с частотой каждые 4-6 недель, по мере необходимости, в зависимости от течения заболевания пациента и реакции на терапию. Например, лекарство вводят локально в заднюю часть глаза с помощью интравитреальной инъекции с частотой каждые 5 недель по мере необходимости в зависимости от течения заболевания пациента и ответа на терапию. В некоторых вариантах лечения РН композицию, содержащую кристаллическую форму эдонентана, вводят в форме для местного применения (например, в виде глазных капель).

Фармацевтические композиции

[125] Некоторые варианты осуществления, описанные в настоящем документе, относятся к фармацевтической композиции, которая может включать (например, изготовленную из) терапевтически эффективное количество кристаллической формы эдонентана, описанного в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, эксципиент или их комбинацию.

[126] Термин «фармацевтическая композиция» относится к смеси одного или обоих соединений, описанных в настоящем документе, с другими химическими компонентами, такими как разбавители или носители. Фармацевтическая композиция облегчает введение соединения в организм. Фармацевтические композиции, как правило, будут адаптированы к конкретному намеченному пути введения.

[127] Термин «фармацевтически приемлемый» означает носитель, разбавитель, эксципиент, соль или композицию, которые являются безопасными и эффективными для предполагаемого применения и обладают желаемой биологической и фармакологической активностью.

[128] Как используется в настоящем документе, термин «носитель» относится к соединению, которое способствует включению соединения в клетки или ткани. Например, без ограничения, диметилсульфоксид (ДМСО) является обычно используемым носителем, который облегчает поглощение многих органических соединений клетками или тканями субъекта.

[129] Как используется в настоящем документе, термин «разбавитель» относится к ингредиенту фармацевтической композиции, который не обладает фармакологической активностью, но может быть фармацевтически необходимым или желательным. Например, разбавитель можно использовать для увеличения объема сильнодействующего лекарственного средства, масса которого слишком мала для производства и/или введения. Это также может быть жидкость для растворения лекарственного средства, вводимого путем инъекции, приема внутрь или ингаляции. Общепринятой формой разбавителя в данной области техники является забуференный водный раствор, такой как, без ограничений, фосфатно-солевой буфер, который имитирует состав крови человека.

[130] Как используется в настоящем документе, термин «эксципиент» относится к инертному веществу, которое добавляли в фармацевтическую композицию для придания, помимо прочего, объема, консистенции, стабильности, связывающей способности, смазывания, дезинтегрирующей способности, замедленного растворения и т. д. «Разбавитель» представляет собой тип эксципиента.

[131] Как используется в настоящем документе, термин «около» понятен специалистами в данной области техники и будет варьироваться в некоторой степени в зависимости от контекста, в котором он используется. Если есть случаи использования термина, которые непонятны специалистам в данной области, с учетом контекста, в котором он используется, «около» будет означать до 10% плюс или минус от конкретного термина.

[132] Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить пациенту-человеку сами по себе или в составе фармацевтических композиций, где они смешаны с другими активными ингредиентами, как при комбинированной терапии, или с носителями, разбавителями, эксципиентами или их комбинациями. Правильный состав зависит от выбранного пути введения. Способы получения и введения описанных в настоящем документе соединений известны специалистам в данной области.

[133] Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть изготовлены способом, который сам по себе известен, например, с помощью обычных процессов смешивания, растворения, гранулирования, растирания, эмульгирования, инкапсулирования или улавливания. См., например, Encapsulation Processes, в: Food Powders, 2005, 199-299. Кроме того, активные ингредиенты содержатся

в количестве, эффективном для достижения намеченной цели. Соединения, используемые в описанных в настоящем документе фармацевтических комбинациях, могут быть представлены в виде фармацевтически приемлемых солей.

[134] Предпочтительно вводить соединения или фармацевтические композиции по настоящему изобретению местно либо в виде местного офтальмологического препарата, либо путем инъекции соединений или фармацевтических композиций непосредственно в ткань глаза, часто в виде депо или препарата с замедленным высвобождением. Способ местного введения может представлять собой интравитреальную, супрахориоидальную, периокулярную или субконъюнктивальную инъекцию состава, использование технологии имплантата или местное применение. Например, соединение вводят в виде липосомального препарата, который медленно высвобождает соединение, поддерживая желаемые фармакологические эффекты. Альтернативно, чтобы получить состав с замедленным или пролонгированным высвобождением для местного или внутриглазного применения, хорошо известными способами могут быть изготовлены наночастицы поливинилового спирта.

[135] В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция представляет собой офтальмологический препарат, содержащий терапевтически эффективное количество композиции, содержащей описанную в настоящем документе кристаллическую форму эдонтана. Как используется в настоящем документе, «офтальмологический препарат» относится к специальной лекарственной форме, предназначенной для закапывания на внешнюю поверхность глаза (местно), введения внутрь (внутриглазно) или рядом с глазом (перикокулярно) или для использования в сочетании с офтальмологическим препаратом. В некоторых вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат находится в виде раствора, суспензии или мази. В других вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат находится в виде геля, гелеобразующего раствора, глазной вставки, препаратов микро/наночастиц для местной или предпочтительно интравитреальной инъекции или имплантата.

[136] В некоторых вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат содержит консервант. Примеры подходящих консервантов включают, но не ограничиваются ими, катионные смачивающие агенты (например, хлорид бензалкония), органические соединения ртути (например, нитрат фенилртути, ацетат фенилртути), органические соединения ртути (например, нитрат фенилртути, ацетат фенилртути), органические кислоты или их сложные эфиры (например, сорбиновую кислоту, сложные эфиры п-гидроксибензойной кислоты, такие как метилгидроксибензоат, пропилгидроксибензоат) и заменители спирта (например, хлорбутанол, фенилэтанол). Консервант может присутствовать в офтальмологическом препарате в количестве от примерно 0,002% масс./об. до примерно 0,5% масс./об. (например, 0,01-0,25% масс./об.). Офтальмологический препарат может дополнительно содержать консервант. Примеры

подходящей консервирующей добавки включают, но не ограничиваются ими, этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA).

[137] В некоторых вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат содержит один или несколько дополнительных эксципиентов или агентов для придания вязкости или смазывания, стабилизации активных ингредиентов от разложения, увеличения растворимости активного или неактивного ингредиента, регулирования тоничности или действия в качестве растворителя. Примеры эксципиентов или агентов для придания вязкости или смазывания включают гипромеллозу, карбомер 974Р, гидроксипропилцеллюлозу (НЕС), поливиниловый спирт, гиалуронат натрия, карбоксиметилцеллюлозу натрия, карбопол 940, гидроксипропилметилцеллюлозу (НРМС), полоксамер, ксилоглюкан, альгиновую кислоту, альгинат натрия, геллановую камедь, ацетатфталат целлюлозы и ксантановую камедь. Примеры эксципиентов или агентов в качестве стабилизаторов включают бисульфит натрия, метабисульфит натрия, тиосульфат натрия и сульфат натрия/серную кислоту, которые могут действовать как антиоксиданты. Примеры эксципиентов или агентов в качестве солюбилизаторов включают провидон, глицерин, полиэтиленгликоль (РЕG), полипропиленгликоль (PPG), РЕG-стеарат, полоксамер 407, тилоксапол, полисорбат 80, креатинин, циклодекстрин и касторовое масло. Примеры эксципиентов или агентов для регулирования тоничности включают хлорид натрия, хлорид калия, дегидрат хлорида кальция, гексагидрат хлорида магния, сахара (например, сахарозу, мальтозу, декстрозу и т. д.), глицерин, пропиленгликоль, маннит, аскорбиновую кислоту и ацетилцистеин.

[138] В некоторых вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат содержит один или несколько буферов для регулирования рН. Примеры буферов для регулирования рН включают, но не ограничиваются ими, буферы на основе цитрата натрия, одноосновного фосфата натрия, двухосновного фосфата натрия, борной кислоты, гептагидрата, тригидрата ацетата натрия, дигидрата цитрата натрия, гистидина и фосфатно-буферный солевой раствор (PBS). Полученная композиция может иметь значение рН 5,0-8,5 (например, 5,0-6,0, 5,2-5,8, 6,0-8,0, 6,6-7,8, 6,2-8,2 и 6,2-7,5).

[139] В некоторых вариантах осуществления изобретения офтальмологический препарат содержит одно или несколько поверхностно-активных веществ. Примеры поверхностно-активных веществ включают эфиры сорбитана и олеиновой кислоты (например, полисорбат или твин 20 и 80) и тилоксапол.

[140] Объем, который можно ввести в глаз человека за один раз, составляет около 50-90 мкл интравитреальным путем, до 450 мкл субретинальным путем и до 200 мкл супрахориоидальным путем. Игла, используемая для этих путей, обычно имеет размер от 27 до 30 G. Доза зависит от концентрации, которая может быть подобрана таким образом, чтобы соответствовать этому объему, активности, целевой эффективности и фармакокинетическому профилю для каждого показания. Как правило, инъекции в глаз будут вводить с частотой, не превышающей один раз в месяц для каждого глаза. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда композицию по данному

изобретению вводят в форме для местного применения (например, в виде глазных капель), объем, вводимый в глаз человека за один раз, может составлять около 50 мкл (концентрация глазных капель может составлять около 5 мг/мл).

[141] В некоторых вариантах осуществления изобретения состав для интравитреального введения будет содержать дозу композиции, включающей кристаллическую форму эдонентана, в диапазоне от около 1 мкг до около 1 мг. Первый примерный состав содержит от около 1 мкг до около 1 мг композиции, включающей кристаллическую форму эдонентана, описанную выше, около 10 мМ гистидина HCl, около 10% дигидрата α,α -трегалозы и около 0,01% полисорбата 20. Второй примерный состав содержит от около 1 мкг до около 1 мг композиции, содержащей кристаллическую форму эдонентана, около 10 мМ фосфата натрия, около 40 мМ хлорида натрия, около 0,03% полисорбата 20 и около 5% сахарозы.

[142] Без дальнейшего уточнения считается, что специалист в данной области техники может, основываясь на вышеприведенном описании, использовать настоящее изобретение в полной мере. Поэтому следующие конкретные примеры следует рассматривать только как иллюстративные и никоим образом не ограничивающие остальную часть изобретения.

ПРИМЕРЫ

[143] Для более полного понимания изобретения, описанного в настоящем документе, приведены следующие примеры. Примеры, описанные в данной заявке, предлагаются для иллюстрации аспектов изобретения и их вариантов осуществления, представленных в настоящем документе, и никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие их объем.

[144] Предложенные в настоящем документе соединения, подлежащие кристаллизации, могут быть получены из легкодоступных исходных материалов с использованием известных способов. Соединения можно кристаллизовать с использованием способов, описанных в настоящем документе.

Сокращения

DSC	дифференциальная сканирующая калориметрия
ЭА	этилацетат
ИПС	изопропиловый спирт
PBS	фосфатно-солевой буфер
XRPD	рентгеновская порошковая дифрактометрия

Пример 1: Пример способа получения кристаллической формы 1

[145] Аморфный эдонентан (840 мг) растворяли в 12 мл ИПС. Полученный раствор фильтровали и фильтр промывали дополнительными 2,5 мл ИПС. Фильтрат концентрировали досуха, растворяли в 11,8 мл ИПС и нагревали при перемешивании до температуры 60°C. Затем добавляли по каплям 18 мл теплой воды при температуре 60°C при энергичном перемешивании и раствор перемешивали при температуре 60°C в течение

1 часа. Раствор медленно охлаждали до температуры 25°C, фильтровали и сушили в вакууме при температуре 25°C с получением 660 мг кристаллической формы 1 (XRPD и DSC на фиг. 2 и фиг. 6, соответственно).

Пример 2: Пример способа получения кристаллической формы 2

[146] Аморфный эдонентан (250 мг) растворяли в 3,5 мл ИПС. Полученный раствор фильтровали и фильтр промывали дополнительными 0,25 мл ИПС. Затем раствор нагревали до температуры 60°C, после чего добавляли по каплям 7,5 мл теплой воды при температуре 60°C при энергичном перемешивании, а затем перемешивали при температуре 60°C в течение 1 часа. После медленного охлаждения до температуры 25°C смесь фильтровали с получением кристаллической формы 2 (XRPD и DSC на фиг. 3 и фиг. 7, соответственно).

[147] Альтернативно, предпочтительный способ получения кристаллической формы 2 заключался в следующем. Аморфный эдонентан (1 г) суспендировали в 20 мл воды при температуре 25°C в течение 15 часов. Затем раствор фильтровали, получая кристаллическую форму 2 (XRPD и DSC на фиг. 3 и фиг. 7, соответственно).

Пример 3: Пример способа получения кристаллической формы 3

[148] Аморфный эдонентан (250 мг) растворяли в 0,5 этилацетата. Полученный раствор отфильтровывали и нагревали до температуры 60°C, при энергичном перемешивании добавляли по каплям 1,5 мл гексана при температуре 60°C. К полученному слегка мутному раствору добавляли 0,1 мл этилацетата, получая прозрачный раствор, который затем перемешивали при температуре 60°C в течение 1 часа. Раствор медленно охлаждали до температуры 25°C и полученный осадок фильтровали, получая кристаллическую форму 3 (XRPD и DSC на фиг. 4 и фиг. 8, соответственно).

Пример 4: Примеры способов получения кристаллической формы 4

[149] Аморфный эдонентан (100 мг) добавляли к 2 мл воды, содержащей 0,2 мл тетрагидрофурана (ТГФ). Полученную смесь перемешивали при температуре 50°C в течение 24 часов, охлаждали и фильтровали с получением формы 4, отличие которой от форм 1, 2 и 3 было подтверждено XRPD (фиг. 5) и DSC (фиг. 9).

[150] В альтернативном методе 107 мг аморфного эдонентана добавляли к 1 мл воды с последующим добавлением эквивалента КОН в 1 мл воды. Полученный раствор нагревали до температуры 60°C в течение 20 минут, фильтровали теплым и подкисляли 1 мл 0,2 н HCl. Полученную смесь перемешивали в течение 5 часов при температуре 60°C, охлаждали и фильтровали с получением формы 4, что было подтверждено XRPD.

[151] В альтернативном методе 150 мг эдонентана (форма 3) добавляли к смеси изопропанола и воды (1 мл и 2 мл, соответственно). Полученную взвесь перемешивали при температуре 15°C в течение 48 часов и затем фильтровали. Анализ XRPD подтверждал, что образец представлял собой форму 4, демонстрируя, что в этих условиях форма 4 являлся более термодинамически стабильной, чем форма 3.

[152] В альтернативном методе 200 мг эдонентана (форма 1) добавляли к смеси изопропанола и воды (1,3 мл и 2,6 мл, соответственно). Полученный раствор нагревали до

температуры 80°C и перемешивали в течение 24 ч, затем охлаждали и фильтровали. Анализ XRPD подтверждал, что полученный таким образом образец являлся формой 4, демонстрируя, что в этих условиях форма 4 являлся более термодинамически стабильной, чем форма 1.

[153] В альтернативном методе 100 мг эдонентана (аморфного) растворяли в 10 мл воды и нагревали до температуры 100°C в течение 40 часов. Полученный раствор охлаждали до температуры окружающей среды и фильтровали с получением формы 4.

[154] В альтернативном методе аморфный (неочищенный) эдонентан растворяли в 8 объемах изопропанола при температуре 60°C. Полученный раствор охлаждали до температуры 57°C, а затем добавляли небольшой кристалл кристаллической формы 4. Через 2 часа раствор охлаждали до температуры 5°C, выдерживали в течение 15 часов и фильтровали, получая кристаллическую форму 4.

Пример 5: Порошковая рентгенограмма кристаллических форм

[155] Порошковые рентгенограммы кристаллических форм 1-4 показаны на фиг. 1-5. Порошковую рентгенограмму кристаллической формы, описанной в настоящем документе, регистрировали с использованием поликристаллического рентгеновского дифрактометра (Bruker, D8 ADVANCE). Излучение CuK α работало при напряжении 40 кВ и токе 40 мА с передающей щелью 1,0 мм и вантовой щелью 0,4°. Образец помещали в центр паза держателя образца и поверхность держателя образца выравняли с поверхностью держателя образца. Данные собирались при непрерывном сканировании с шагом 0,02° и скоростью 8°/мин с использованием детектора LYNXEYE.

[156] В следующих таблицах 1-4 перечислены некоторые характеристические пики порошковой рентгенограммы для кристаллических форм 1-4, соответственно.

Таблица 1. Пример порошковой рентгенограммы кристаллической формы 1

2θ	Интенсивность (число отсчетов)
6,3	1250
7,5	2750
11,7	1400
15,1	2200
17,3	900

Таблица 2. Пример порошковой рентгенограммы кристаллической формы 2

Угол [2θ]	Интенсивность (число отсчетов)
9,6	2250
10,4	1500
11,1	600
12,3	750
14,6	1000
15,1	800

17,2	1000
19,6	3000
19,7	3000
22,0	1500
22,9	1500
23,7	2000

Таблица 3. Пример порошковой рентгенограммы кристаллической формы 3

2θ	Интенсивность (число отсчетов)
7,8	2000
9,0	2750
11,6	750
15,8	2500
19,1	900

Таблица 4. Пример порошковой рентгенограммы кристаллической формы 4

Угол [2θ]	Интенсивность (число отсчетов)
5,6	1800
11,4	12600
14,4	1400
15,7	1200
16,8	1400
17,7	4800
19,3	6700
21,1	2900
21,9	2400
23,9	2400
24,6	1900

[157] В таблице 5 ниже перечислены характеристические пики порошковой рентгеновской дифракции для кристаллической формы 4, показанные на фиг. 5.

Таблица 5. Характеристические пики порошковой рентгеновской дифракции для кристаллической формы 4

СКАН: 3.0/44.9933/0.01973/24.78(сек), Cu(40 кВ, 40 мА), I(max)=6860, 04/10/20 10:20							
ПИК: 35-pts/Параболический фильтр, Порог=3,0, Граница пропускания= 0.1%, VG=3/1.0, Вершина пика=Вершина							
ПРИМЕЧАНИЕ: 35-pts/Параболический фильтр, пороговое значение = 3,0, отсечка = 0-1%, VG=3/1,0, пик-вершина = вершина							
#	2-Theta	d(Å)	Высота	I%	Площадь	I% FWHM	
1	5.641	15.6528	1393	20.3	13553	24.5	0.187
2	8.803	10.0363	563	8.2	3809	6.9	0.180
3	9.256	9.5470	504	7.3	2976	5.4	0.169
4	10.494	8.4231	818	11.9	4742	8.6	0.134
5	11.367	7.7780	6860	100.0	55374	100.0	0.140
6	12.198	7.2497	434	6.3	1350	2.4	0.117
7	14.408	6.1424	951	13.9	6234	11.3	0.141
8	15.072	5.8734	484	7.1	1747	3.2	0.110
9	15.710	5.6362	764	11.1	4042	7.3	0.124
10	16.773	5.2814	839	12.2	3958	7.1	0.113
11	17.739	4.9959	2150	31.3	20631	37.3	0.183
12	18.629	4.7591	595	8.7	1999	3.6	0.109
13	19.280	4.5999	3173	46.3	23625	42.7	0.137
14	19.733	4.4952	608	8.9	3384	6.1	0.180
15	20.295	4.3721	536	7.8	2106	3.8	0.151
16	21.132	4.2006	1439	21.0	8311	15.0	0.124
17	21.907	4.0538	1206	17.6	11523	20.8	0.222
18	22.495	3.9493	795	11.6	3003	5.4	0.112
19	23.365	3.8041	903	13.2	4778	8.6	0.141
20	23.938	3.7143	1304	19.0	7676	13.9	0.133
21	24.624	3.6123	995	14.5	7730	14.0	0.189
22	26.073	3.4148	595	8.7	2572	4.6	0.146
23	26.718	3.3338	722	10.5	7595	13.7	0.294
24	28.674	3.1107	412	6.0	1069	1.9	0.142
25	29.141	3.0619	398	5.8	754	1.4	0.098
26	30.115	2.9650	440	6.4	3479	6.3	0.309
27	30.841	2.8969	437	6.4	1605	2.9	0.152
28	33.588	2.6660	345	5.0	2082	3.8	0.259

Пример 6: Физико-химические свойства кристаллических форм

[158] В настоящем документе представлены примерные физико-химические свойства кристаллических форм. Описанные в настоящем документе температуры плавления можно измерить, используя следующий способ:

Протокол точки плавления

[159] Пик максимальной точки плавления (T_m) каждой кристаллической формы определяли с помощью DSC. DSC описанной в настоящем документе кристаллической формы измеряли с использованием прибора TA DSC Q2000. Образец (1,3010 мг) взвешивали в алюминиевом тигле и нагревали от температуры 30°C до температуры 300°C

со скоростью нагрева 10°C/мин. Собирали температуры начала пика плавления кристаллов, начала пика, максимума пика и конца пика.

[160] Описанную в настоящем документе растворимость можно измерить, используя следующий способ:

Протокол анализа растворимости

1. В нижнюю камеру флаконов Whatman Mini-UniPrep (GE Healthcare) отвешивали образцы массой не менее 2,0 мг. В каждую камеру добавляли по 450 мкл буфера.

2. Поршни фильтра флаконов Mini-UniPrep помещали и сжимали до положения уровня жидкости, чтобы обеспечить контакт буфера и соединения с фильтром во время инкубации.

3. Образцы встряхивали в течение 2 минут с последующей инкубацией при комнатной температуре (около 25±2°C) в течение 24 часов при встряхивании со скоростью 500 об/мин.

4. Mini-UniPrep прессовали для подготовки фильтратов к инъекции в систему ВЭЖХ. Все флаконы проверяли на наличие видимого нерастворенного материала перед фильтрацией и на утечку после фильтрации.

5. Разбавляли супернатант буфером в 100 раз, чтобы получить разбавители, которые канализовали с помощью ВЭЖХ.

[161] В Таблице 6 ниже приведены типичные физико-химические свойства кристаллических Форм 1-4. Физико-химические свойства могут быть получены с использованием способов, описанных выше.

Таблица 6. Примеры физико-химических свойств кристаллических Форм 1-4

Полиморф	Сольватация	T _m (°C)	Растворимость
			Фосфатный буфер pH 7,0 [112] (мкг/мл)
Форма 1	ангидрат	151	264
Форма 2	моногидрат	122	35
Форма 3	ангидрат	162	251
Форма 4	ангидрат	163	138

[162] Среди четырех кристаллических форм форма 4 характеризовалась более высокой температурой плавления (T_m) чем форма 1 и форма 2. Форма 4 обладала меньшей растворимостью, чем форма 1 и форма 3. Форма 4 продемонстрировала более высокую термодинамическую стабильность по сравнению с формой 1, формой 2 и формой 3, как показано выше. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения для фармацевтической разработки предпочтительна форма 4.

ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

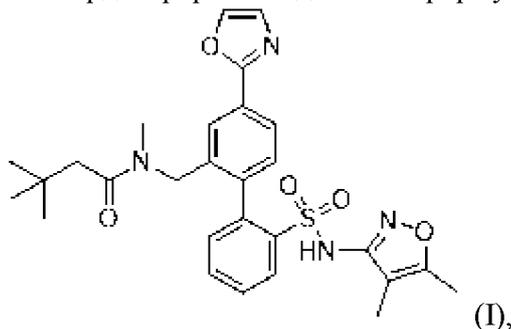
[163] Все признаки, описанные в настоящем описании, могут комбинироваться в любой комбинации. Каждая функция, описанная в настоящем описании, может быть заменена альтернативной функцией, служащей той же, эквивалентной или аналогичной

цели. Таким образом, если прямо не указано иное, каждый описанный признак является лишь примером общей серии эквивалентных или подобных признаков.

[164] Кроме того, из вышеприведенного описания специалист в данной области может легко установить основные характеристики настоящего изобретения и, не отступая от его сущности и объема, может внести различные изменения и модификации изобретения, чтобы адаптировать его к различным применениям и условиям. Таким образом, другие варианты осуществления также входят в формулу изобретения.

Настоящая заявка охватывает следующие аспекты.

1. Твердая форма соединения формулы I:



где указанная твердая форма представляет собой безводную кристаллическую форму (форму 4), имеющую порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика с точки зрения 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

2. Твердая форма по п.1, где безводная кристаллическая форма 4 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

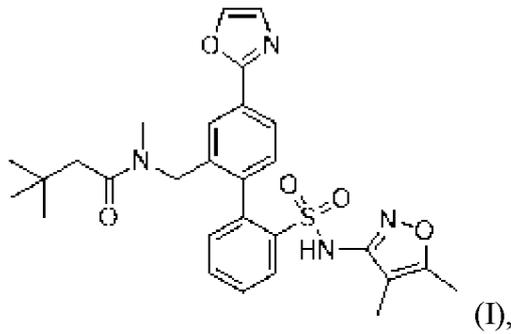
3. Твердая форма по п.1, где безводная кристаллическая форма 4 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

4. Твердая форма по п.1, где кристаллическая форма 4 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством угла дифракции 2θ :

Угол [2θ]
5,6
11,4
17,7
19,3
21,1
21,9

5. Твердая форма по п.1, где безводная кристаллическая форма 4 имеет T_m около 163°C по данным DSC анализа.

6. Композиция, содержащая соединение формулы I:



где

указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форма 4), имеющую порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика с точки зрения 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и

указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

7. Композиция по п.6, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

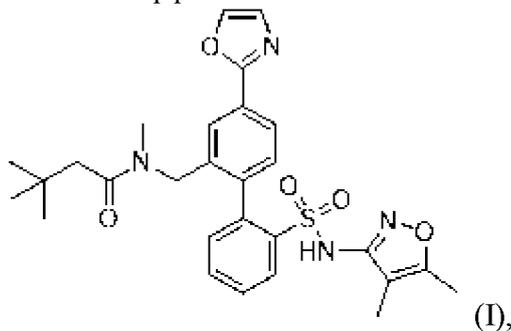
8. Композиция по п.6, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

9. Композиция по п.6, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

10. Композиция по п.6, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

11. Способ лечения глазного заболевания, включающий:

контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I:



где:

указанная болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН);

указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форму 4), где кристаллическая форма 4 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и

указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

12. Способ по п.11, где безводная кристаллическая форма 4 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

13. Способ по п.11, где безводная кристаллическая форма 4 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$ и $19,3\pm 0,2^\circ$.

14. Способ по любому из пп.11-13, где безводная кристаллическая форма 4 имеет T_m около 163°C по данным DSC анализа.

15. Способ по любому из пп.11-14, где безводная кристаллическая форма 4 имеет растворимость в фосфатном буфере около 138 мкг/мл при около pH 7.

16. Способ по любому из пп.11-15, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

17. Способ по любому из пп.11-15, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

18. Способ по любому из пп.11-15, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

19. Способ по любому из пп.11-15, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

20. Способ по любому из пп.11-19, где болезнь глаз представляет собой глаукому.

21. Способ по любому из пп.11-19, где болезнь глаз представляет собой диабетическую ретинопатию (ДР).

22. Способ по любому из пп.11-19, где болезнь глаз представляет собой окклюзию вен сетчатки (ОВС).

23. Способ по любому из пп.11-19, где болезнь глаз представляет собой ретинопатию недоношенных (РН).

24. Способ по любому из пп.11-19, где терапевтическую эффективность лечения определяют путем (i) обнаружения снижения внутриглазного давления или снижения скорости повреждения зрительного нерва в количестве, достаточном для облегчения или предотвращения повреждения зрительного нерва; (ii) оценки степени улучшения остроты

зрения или поля зрения; (iii) измерения снижения нейродегенерации сетчатки, вызванной диабетом; (iv) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки; или (v) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки, уменьшения воспаления или их комбинации.

25. Способ по любому из пп.11-19, где композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество агента, снижающего внутриглазное давление (ВГД), или нейропротекторного агента, или его фармацевтически приемлемой соли.

26. Способ по любому из пп.11-19, где композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество агента, снижающего внутриглазное давление (ВГД), или его фармацевтически приемлемой соли, где агент, снижающий ВГД, выбран из группы, включающий простагландины (такие как латанопрост или травопрост), бета-блокаторы (такие как тимолол или бетаксолол), агонисты альфа-адренорецепторов (такие как бримонидин, апраклонидин), ингибиторы карбоангидразы (такие как дорзоламид или бринзоламид), ингибиторы Rho-киназы (такие как нетарсудил) и миотические или холинергические агенты (такие как пилокарпин).

27. Способ по п.26, где композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество нейропротекторного агента или его фармацевтически приемлемой соли, где нейропротекторный агент выбран из группы, включающей антиапоптотические агенты (такие как ингибитор каспазы-2) и нейротрофические факторы (такие как цилиарный нейротрофический фактор).

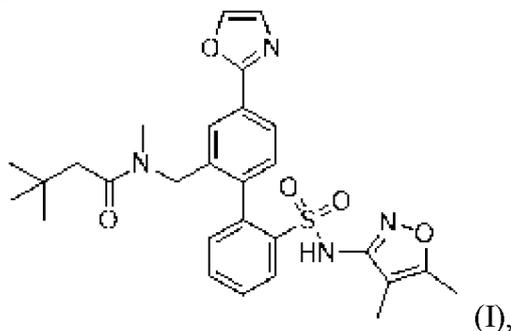
28. Способ по п.11, где композицию вводят в дозе от 1 мкг до 5 мг.

29. Способ по п.11, где контактирование включает местное введение композиции на поверхность глаза или его часть.

30. Способ по п.11, где контактирование включает инъекцию композиции в глаз или его компонент.

31. Способ по п.11, где композиция содержит офтальмологический препарат, содержащий один или несколько консервантов, вспомогательных консервантов, регуляторов вязкости или смазывания, регуляторов тонуса, солюбилизаторов, буферов, поверхностно-активных веществ, стабилизаторов или их комбинации.

32. Способ получения безводной кристаллической формы (форма 4) соединения формулы I:



где способ включает:

(a) перемешивание соединения формулы I в водном растворе, органическом растворителе или их смеси при температуре в диапазоне от около 40°C до около 120°C;

(b) охлаждение полученного раствора до температуры в диапазоне от около 0°C до около комнатной температуры и, когда соединение находится в щелочном водном растворе, доведение значения рН в диапазоне от около 3 до около 7; и

(c) фильтрование образца, полученного таким образом, с получением кристаллической формы 4,

где указанная кристаллическая форма 4 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$.

33. Способ по п.32, где водным раствором является вода.

34. Способ по п.32, где водным раствором является щелочной водный раствор.

35. Способ по п.34, где щелочной водный раствор имеет рН 8 или выше.

36. Способ по п.34, где щелочной водный раствор выбран из раствора гидроксида калия и карбоната калия.

37. Способ по п.32, где органический растворитель является водорастворимым органическим растворителем.

38. Способ по п.32, где органический растворитель выбран из тетрагидрофурана и изопропанола.

39. Способ по п.32, где температура перемешивания находится в диапазоне от около 80°C до около 120°C.

40. Способ по п.32, где температура перемешивания находится в диапазоне от около 40°C до около 80°C.

41. Способ по п.32, где перемешивание проводят в течение от около 20 часов до около 50 часов.

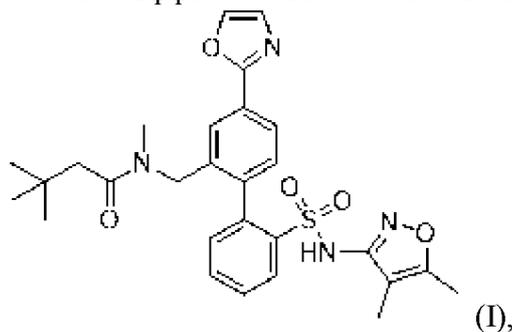
42. Способ по п.32, где взвесь соединения формулы I образуется на стадии перемешивания.

43. Способ по п.32, где способ дополнительно включает затравку кристаллической формы 4 и выдерживание полученного раствора в течение около 2 часов.

44. Способ по п.32, где охлаждение проводят при температуре около 5°C в течение около 15 часов.

45. Способ лечения глазного заболевания, включающий:

контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I:



где:

указанная болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН);

указанное соединение выбрана из группы, включающей безводную кристаллическую форму (форму 1); моногидратную кристаллическую форму (форму 2); и безводную кристаллическую форму (форму 3), где:

безводная кристаллическая форма 1 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$, $15,1\pm 0,2^\circ$ и $17,3\pm 0,2^\circ$;

моногидратная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$; и

безводная кристаллическая форма 3 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $7,8\pm 0,2^\circ$, $9,0\pm 0,2^\circ$, $11,6\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$,

где:

когда указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму 1, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

когда указанное соединение представляет собой моногидратную кристаллическую форму 2, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

когда указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму 3, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

46. Способ по п.45, где безводная кристаллическая форма 1 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

47. Способ по п.45, где безводная кристаллическая форма 1 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

48. Способ по любому из пп.45-47, где безводная кристаллическая форма 1 имеет T_m около 151°C по данным DSC анализа.

49. Способ по любому из пп.45-48, где безводная кристаллическая форма 1 имеет растворимость в фосфатном буфере около 264 мкг/мл при около pH 7.

50. Способ по любому из пп.45-48, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

51. Способ по любому из пп.45-48, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

52. Способ по любому из пп.45-48, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

53. Способ по любому из пп.45-48, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

54. Способ по п.45, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$ и $9,6\pm 0,2^\circ$.

55. Способ по п.45, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$ и $22,9\pm 0,2^\circ$.

56. Способ по любому из пп.45, и 54-55, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет T_m около 122°C по данным DSC анализа.

57. Способ по любому из пп.45, и 54-56, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет растворимость в фосфатном буфере около 35 мкг/мл при около pH 7.

58. Способ по любому из пп.45, и 54-57, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

59. Способ по любому из пп.45, и 54-57, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

60. Способ по любому из пп.45, и 54-57, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

61. Способ по любому из пп.45, и 54-57, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

62. Способ по п.45, где безводная кристаллическая форма 3 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$, $7,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$.

63. Способ по п.45, где безводная кристаллическая форма 3 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $7,8\pm 0,2^\circ$.

64. Способ по любому из пп.45, и 62-63, где безводная кристаллическая форма 3 имеет T_m около 162°C по данным DSC анализа.

65. Способ по любому из пп.45, и 62-64, где безводная кристаллическая форма 3 имеет растворимость в фосфатном буфере около 251 мкг/мл при около pH 7.

66. Способ по любому из пп.45, и 62-65, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

67. Способ по любому из пп.45, и 62-65, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

68. Способ по любому из пп.45, и 62-65, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

69. Способ по любому из пп.45, и 62-65, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

70. Способ по любому из пп.45-69, где болезнь глаз представляет собой глаукому.

71. Способ по любому из пп.45-69, где болезнь глаз представляет собой диабетическую ретинопатию (ДР).

72. Способ по любому из пп.45-69, где болезнь глаз представляет собой окклюзию вен сетчатки (ОВС).

73. Способ по любому из пп.45-69, где болезнь глаз представляет собой ретинопатию недоношенных (РН).

74. Способ по п.45, где терапевтическую эффективность лечения определяют путем (i) обнаружения снижения внутриглазного давления или снижения скорости повреждения зрительного нерва в количестве, достаточном для облегчения или предотвращения повреждения зрительного нерва; (ii) оценки степени улучшения остроты зрения или поля зрения; (iii) измерения снижения нейродегенерации сетчатки, вызванной диабетом; (iv) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки; или (v) измерения улучшения перфузии тканей или сетчатки, уменьшения воспаления или их комбинации.

75. Способ по п.45 где композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество агента, снижающего внутриглазное давление (ВГД), или нейтропротекторного агента, или его фармацевтически приемлемой соли.

76. Способ по п.45, где композиция дополнительно содержит терапевтически эффективное количество агента, снижающего внутриглазное давление (ВГД), или его фармацевтически приемлемой соли, где агент, снижающий ВГД, выбран из группы, включающей простагландины (такие как латанопрост или травопрост), бета-блокаторы (такие как тимолол или бетаксолол), агонисты альфа-адренорецепторов (такие как бримонидин, апраклонидин), ингибиторы карбоангидразы (такие как дорзоламид или

бринзоламид), ингибиторы Rho-киназы (такие как нетарсудил) и миотические или холинергические агенты (такие как пилокарпин).

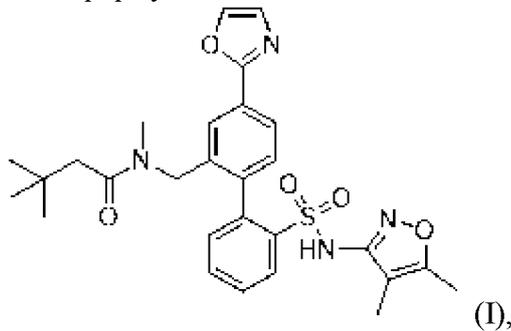
77. Способ по п.45, где композицию вводят в дозе от 1 мкг до 5 мг.

78. Способ по п.45, где контактирование включает местное введение композиции на поверхность глаза или его часть.

79. Способ по п.45, где контактирование включает инъекцию композиции в глаз или его компонент.

80. Способ по п.45, где композиция содержит офтальмологический препарат, содержащий один или несколько консервантов, вспомогательных консервантов, регуляторов вязкости или смазывания, регуляторов тонуса, солюбилизаторов, буферов, поверхностно-активных веществ, стабилизаторов или их комбинации.

81. Способ получения моногидратной кристаллической формы (форма 2) соединения формулы I:



где способ включает:

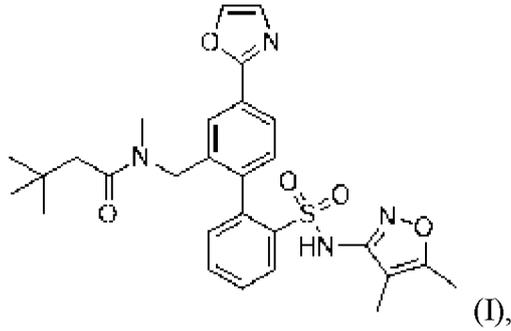
(a) получение взвеси соединения формулы I в водной среде при температуре в диапазоне от около 15°C до около 35°C в течение заданного периода времени для получения образца; и

(b) фильтрование образца, полученного таким образом, с получением кристаллической формы 2,

где указанная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая соединение формулы I:



где

указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму (форма 4), имеющую порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика с точки зрения 2θ , выбранных из пиков при $5,6\pm 0,2^\circ$, $11,4\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $19,3\pm 0,2^\circ$, $21,1\pm 0,2^\circ$ и $21,9\pm 0,2^\circ$; и

указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

2. Композиция по п.1, где указанное соединение на 96% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

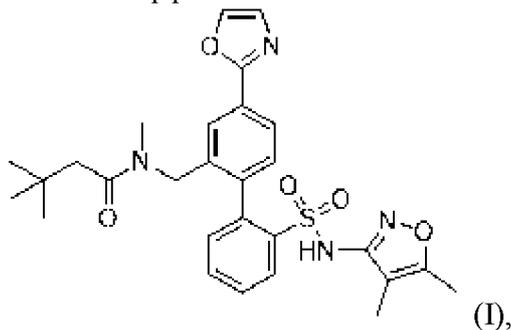
3. Композиция по п.1, где указанное соединение на 97% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

4. Композиция по п.1, где указанное соединение на 98% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

5. Композиция по п.1, где указанное соединение на 99% по массе или более находится в виде кристаллической формы 4 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

6. Способ лечения глазного заболевания, включающий:

контактирование оптической ткани субъекта с композицией, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I:



где:

указанная болезнь глаз выбрана из группы, включающей глаукому, диабетическую ретинопатию (ДР), окклюзию вен сетчатки (ОВС) и ретинопатию недоношенных (РН);

указанное соединение выбрана из группы, включающей безводную кристаллическую форму (форму 1); моногидратную кристаллическую форму (форму 2); и безводную кристаллическую форму (форму 3), где:

безводная кристаллическая форма 1 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$, $15,1\pm 0,2^\circ$ и $17,3\pm 0,2^\circ$;

моногидратная кристаллическая форма 2 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $22,9\pm 0,2^\circ$ и $23,7\pm 0,2^\circ$; и

безводная кристаллическая форма 3 имеет порошковую рентгенограмму, содержащую по меньшей мере три характеристических пика по показателю 2θ , выбранных из пиков при $7,8\pm 0,2^\circ$, $9,0\pm 0,2^\circ$, $11,6\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$,

где:

когда указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму 1, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 1 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

когда указанное соединение представляет собой моногидратную кристаллическую форму 2, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 2 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции;

когда указанное соединение представляет собой безводную кристаллическую форму 3, указанное соединение на 90% по массе или более находится в виде кристаллической формы 3 в расчете на общую массу соединения, присутствующего в композиции.

7. Способ по п.6, где безводная кристаллическая форма 1 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $6,3\pm 0,2^\circ$, $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

8. Способ по п.6, где безводная кристаллическая форма 1 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $7,5\pm 0,2^\circ$, $11,7\pm 0,2^\circ$ и $15,1\pm 0,2^\circ$.

9. Способ по любому из пп.6-8, где безводная кристаллическая форма 1 имеет T_m около 151°C по данным DSC анализа.

10. Способ по любому из пп.6-9, где безводная кристаллическая форма 1 имеет растворимость в фосфатном буфере около 264 мкг/мл при около pH 7.

11. Способ по п.6, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$ и $9,6\pm 0,2^\circ$.

12. Способ по п.6, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $19,6\pm 0,2^\circ$, $19,7\pm 0,2^\circ$, $9,6\pm 0,2^\circ$, $10,4\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$ и $22,9\pm 0,2^\circ$.

13. Способ по любому из пп.6 и 11-12, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет T_m около 122°C по данным DSC анализа.

14. Способ по любому из пп.45 и 11-13, где моногидратная кристаллическая форма 2 имеет растворимость в фосфатном буфере около 35 мкг/мл при около pH 7.

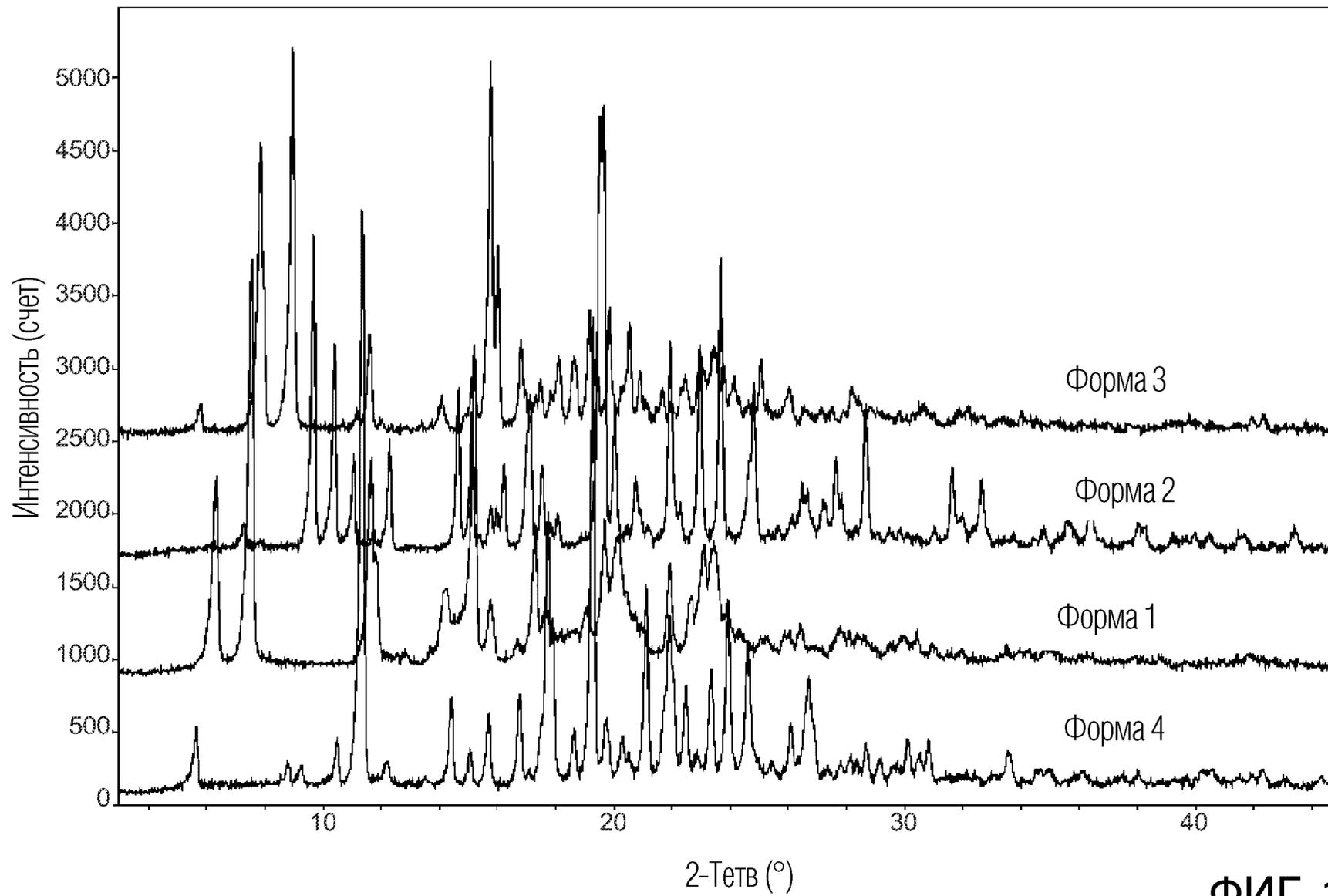
15. Способ по п.6, где безводная кристаллическая форма 3 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$, $7,8\pm 0,2^\circ$ и $19,1\pm 0,2^\circ$.

16. Способ по п.6, где безводная кристаллическая форма 3 имеет следующие характеристические пики, выраженные посредством углов дифракции (2θ): $9,0\pm 0,2^\circ$, $15,8\pm 0,2^\circ$ и $7,8\pm 0,2^\circ$.

17. Способ по любому из пп.6 и 15-16, где безводная кристаллическая форма 3 имеет T_m около 162°C по данным DSC анализа.

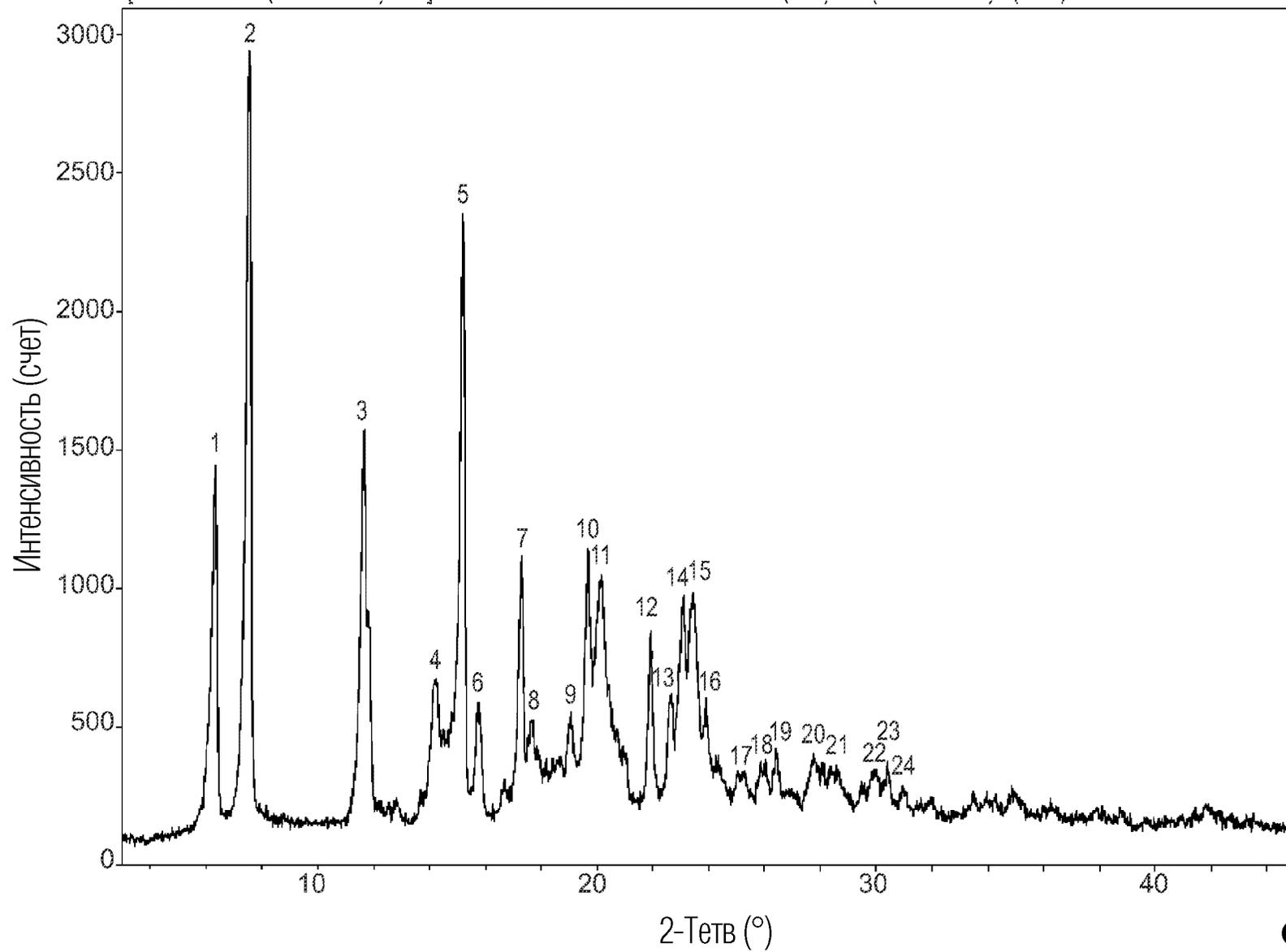
18. Способ по любому из пп.6 и 15-17, где безводная кристаллическая форма 3 имеет растворимость в фосфатном буфере около 251 мкг/мл при около pH 7.

По доверенности

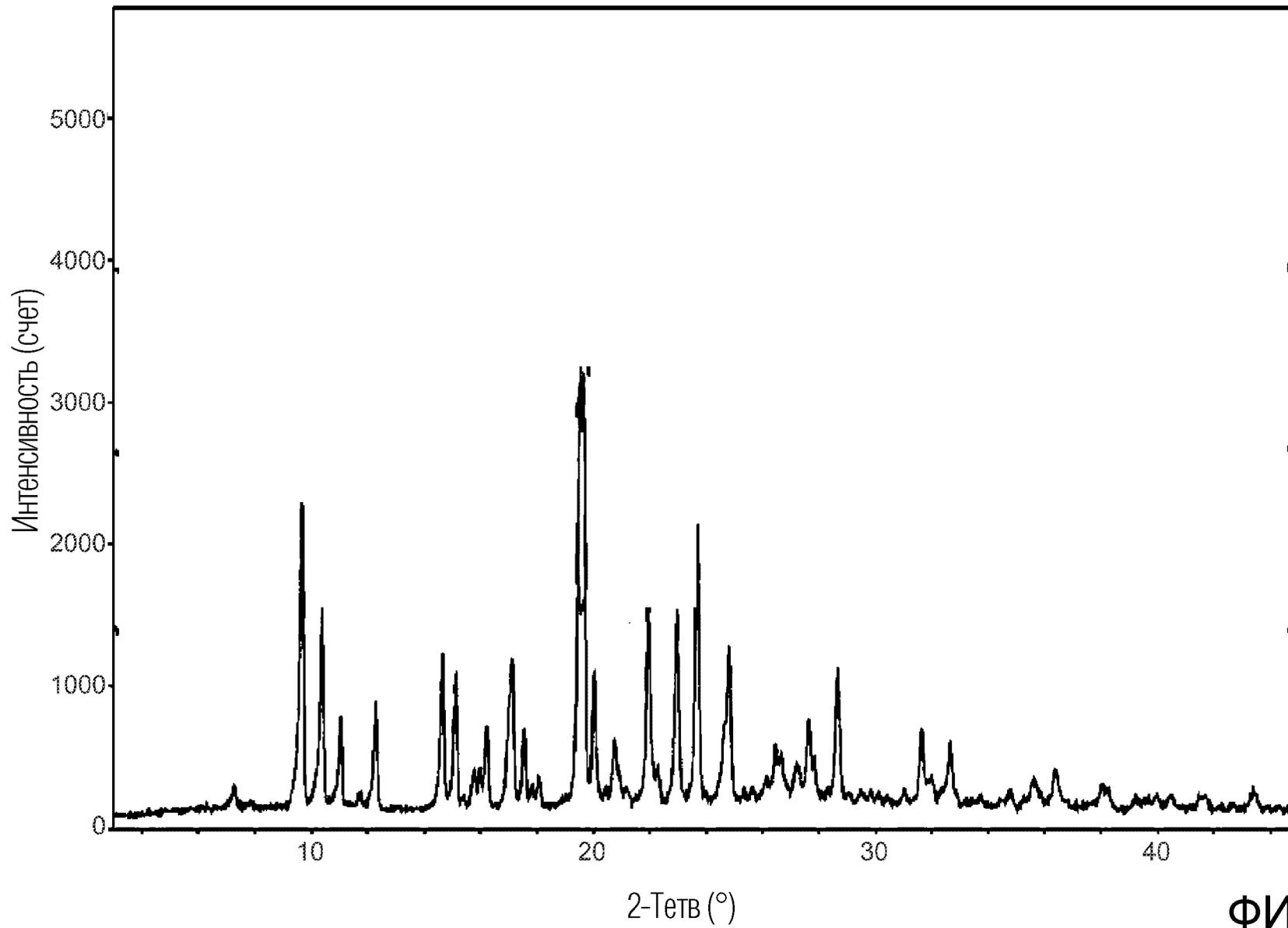


ФИГ. 1

[20191216021(P501-1C-3).raw]. SCAN: 3.0/44.9933/0.01973/24.78(sec). Cu(40kV.40mA). I(max)=2947. 12/16/19 16:07

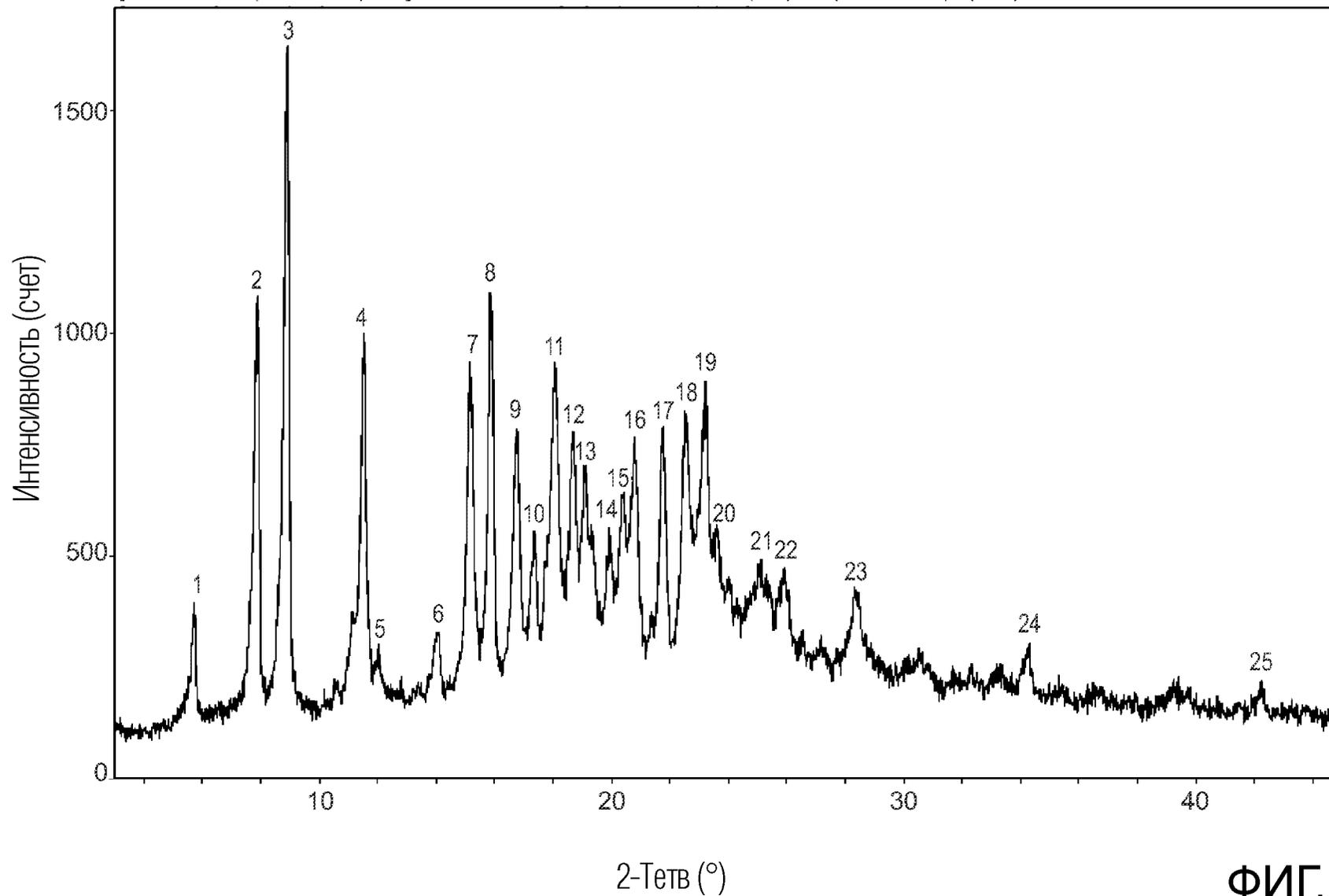


ФИГ. 2

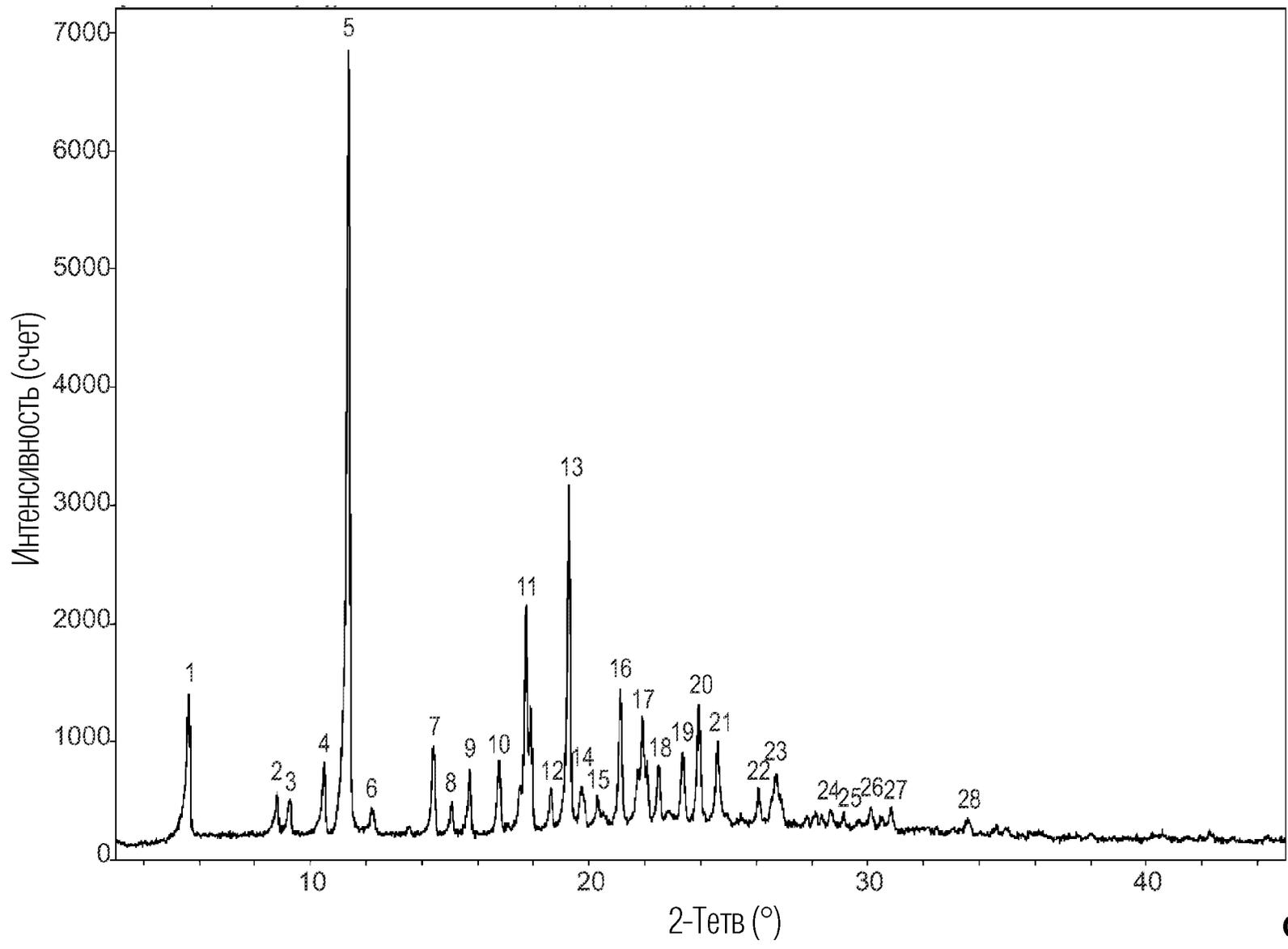


ФИГ. 3

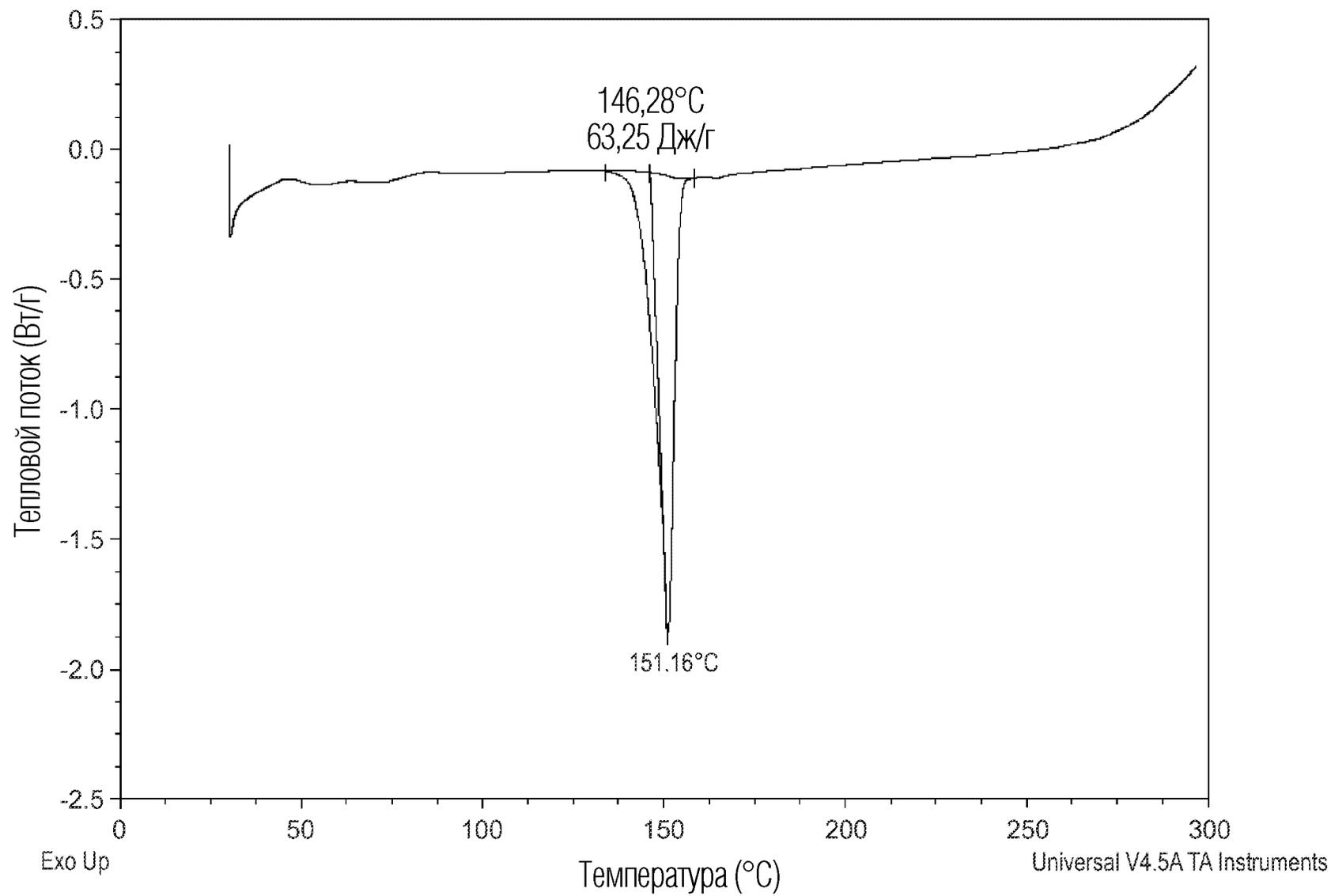
[20191216022(P501-1D-4).raw] . SCAN: 3.0/44.9933/0.01973/24.78(sec). Cu(40kV.40mA). I(max)=1650. 12/16/19 16:16



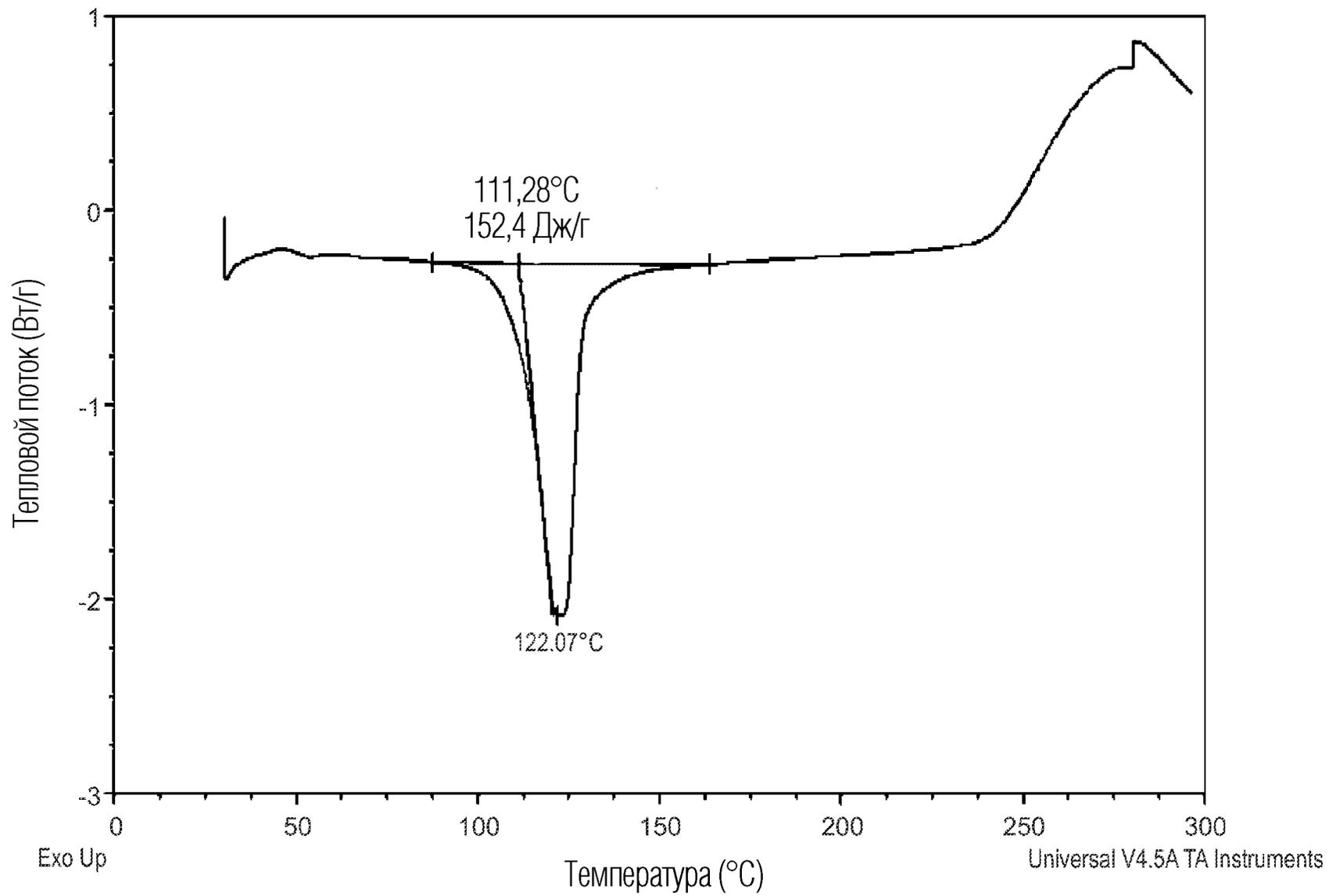
ФИГ. 4



ФИГ. 5

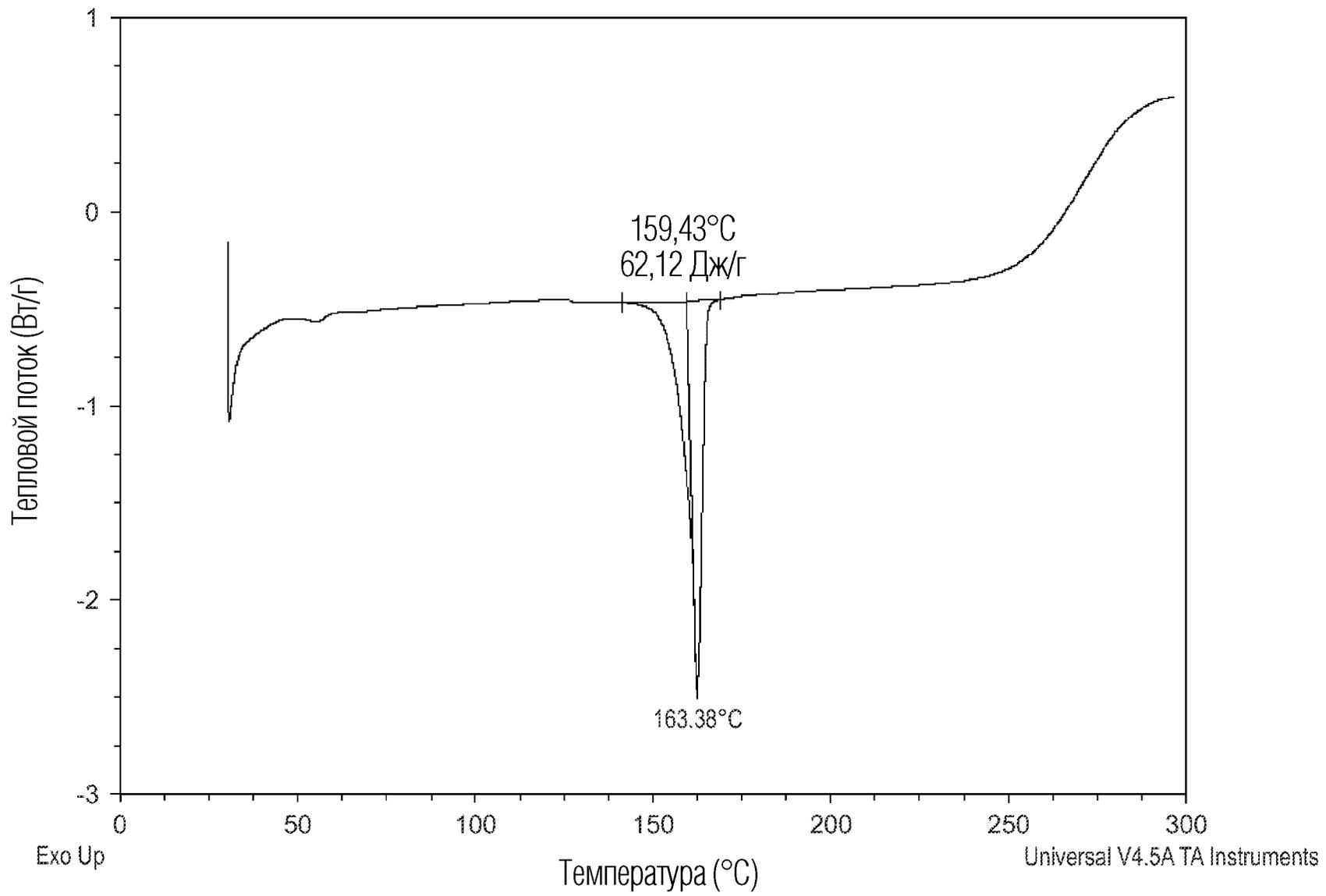


ФИГ. 6

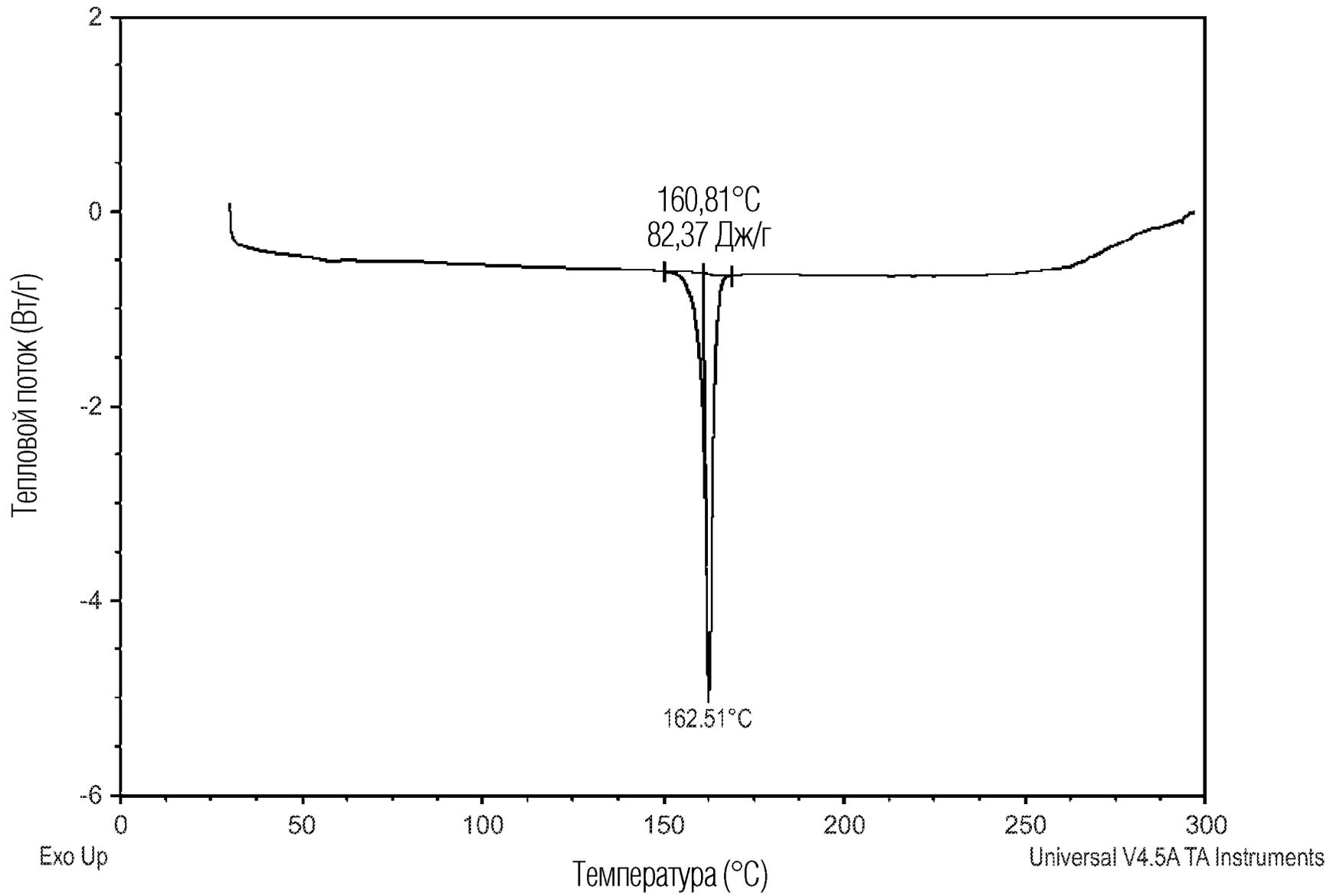


7/9

ФИГ. 7



ФИГ. 8



ФИГ. 9

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PFT-004WO		FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US 21/16414	International filing date (<i>day/month/year</i>) 03 February 2021 (03.02.2021)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 06 February 2020 (06.02.2020)	
Applicant PERFUSE THERAPEUTICS, INC.			

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

the international application in the language in which it was filed.

a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

the text is approved as submitted by the applicant.

the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____

as suggested by the applicant.

as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/16414

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 15-27, 49-53, 57-61, 65-73
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/16414

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C07D 413/12; C07D 413/14; C07D 413/00 (2021.01)

CPC - C07D 413/12; A61P 9/00; A61P 25/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,043,265 A (Murugesan et al.) 28 March 2000 (28.03.2000); col 1, ln 50-60	1-14, 28-48, 54-56, 62-64, 74-81
A	US 7,927,613 B2 (Almarsson et al.) 19 April 2011 (19.04.2011); abstract, col 242	1-14, 28-48, 54-56, 62-64, 74-81
A	US 2007/0116729 A1 (Palepu) 24 May 2007 (24.05.2007); abstract, para [0031]	1-14, 28-48, 54-56, 62-64, 74-81
A	WO 2018/185516 A1 (INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE)) 11 October 2018 (11.10.2018); entire document	1-14, 28-48, 54-56, 62-64, 74-81
A	US 2003/0176356 A1 (Yorio et al.) 18 September 2003 (18.09.2003); entire document	1-14, 28-48, 54-56, 62-64, 74-81

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

05 April 2021

Date of mailing of the international search report

APR 15 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Lee Young

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300