

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 045936

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2024.01.19

(51) Int. Cl. A61K 9/127 (2006.01)  
A61K 31/4196 (2006.01)

(21) Номер заявки  
202091626

(22) Дата подачи заявки  
2018.12.21

---

(54) ИНЪЕЦИРУЕМЫЕ КОМПОЗИЦИИ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ, И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

---

(31) 62/612,893

(32) 2018.01.02

(33) US

(43) 2020.09.22

(86) PCT/US2018/067216

(87) WO 2019/135954 2019.07.11

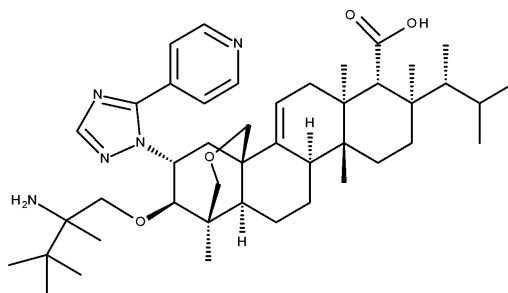
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
САЙНЕКСИС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Мозерам Раджешвар (US)

(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

(56) STEPHEN A. WRING ET AL.: "Preclinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Target of SCY-078, a First-in-Class Orally Active Antifungal Glucan Synthesis Inhibitor, in Murine Models of Disseminated Candidiasis", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 61, no. 4, 30 January 2017 (2017-01-30), XP55518287, US, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.02068-16, abstract, page 6, last paragraph - page 7, paragraph 1; figure 3; table 4, page 9, last paragraph - page 10, paragraph 1, page 13, paragraph 6

(57) Изобретение относится к инъеклируемым композициям, обладающим противогрибковой активностью, содержащим одну или более моноламеллярных везикул, в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат. Изобретение также относится к способу получения таких композиций и способу лечения грибковой инфекции посредством введения указанных композиций.



(II)

045936 B1

045936 B1

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим липосомные везикулы, в которых инкапсулировано тритерпеноидное противогрибковое соединение - производное энфумафунгина. В частности, изобретение относится к композициям, содержащим везикулы с фосфолипидным бислоем, в которых инкапсулировано тритерпеноидное производное энфумафунгина (или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат), представляющее собой ингибитор синтеза (1,3)- $\beta$ -D-глюкана, которое может быть применено для лечения и/или профилактики системных грибковых инфекций. Композиции по настоящему изобретению имеют хорошие показатели переносимости при местном применении и хорошо подходят для введения путем инъекции.

### Уровень изобретения

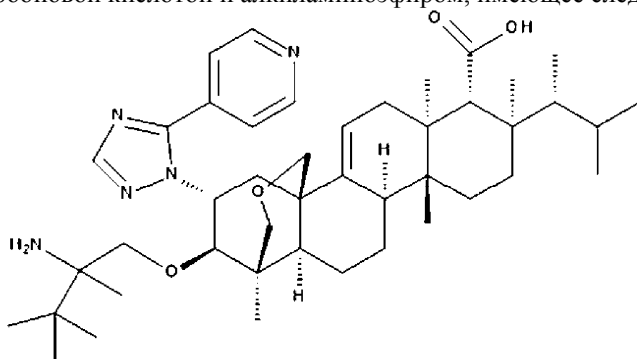
Грибковые инфекции являются большой проблемой в здравоохранении и чаще всего проявляются в виде инвазивного грибкового заболевания (например, кандидемии, инвазивного аспергиллеза), локализованных грибковых инфекций (например, эмпиемы плевры и абсцесса, локализованных в брюшной полости, мозге, легком и т.д.), и в виде инфекций кожи и слизистых оболочек (таких как кандидозы ротовой полости, пищевода и вульвовагинальной локализации). Тип и масштабы инфекции зависят от факторов вирулентности грибкового патогена, уровня защиты организма-хозяина и вовлеченных анатомических зон.

Тяжелые системные грибковые инфекции чаще встречаются у пациентов с ослабленным иммунитетом, например, у пациентов, проходящих химиотерапевтическое лечение злокачественных опухолей, или получающих иммуномодулирующие средства для лечения хронических воспалительных состояний, или у пациентов с иммунодефицитными синдромами, как приобретенными, так и обусловленными генетическими патологиями. Несмотря на наличие современной противогрибковой терапии, системные грибковые инфекции связаны с уровнем смертности до 50%, в зависимости от патогена и основного состояния пациента.

Энфумафунгин представляет собой полуацетальный тритерпеновый гликозид, который продуцируется у ферментированных *Normonema* spp., связанных с живыми листьями *Juniperus communis* (патент США № 5756472; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000; Schwartz et al., *JACS*, 722:4882-4886, 2000; Schwartz, R.E., *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 11(11):1761-1772, 2001). Энфумафунгин относится к ряду тритерпеновых гликозидов, обладающих противогрибковой активностью *in vitro*. Было установлено, что механизм противогрибкового действия энфумафунгина и других противогрибковых тритерпеноидных гликозидов заключается в ингибировании синтеза глюкана в клеточной стенке грибов за счет их специфического действия на (1,3)- $\beta$ -D-глюкансинтазу (Onishi et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:368-377, 2000; Pelaez et al., *Systematic and Applied Microbiology*, 23:333-343, 2000). Для действия противогрибкового препарата (1,3)- $\beta$ -D-глюкансинтаза является привлекательной мишенью, поскольку она присутствует во многих патогенных грибах и, следовательно, можно получить широкий спектр противогрибковой активности. Дополнительно, в связи с отсутствием у млекопитающих аналога (1,3)- $\beta$ -D-глюкансинтазы, производные энфумафунгина по изобретению не имеют обусловленную механизмом действия токсичность, или такая токсичность слабо выражена. Применяемые согласно настоящему изобретению тритерпеноидные соединения - производные энфумафунгина, проявляют активность против грибковых изолятов *Candida* spp., включая изоляты, обладающие устойчивостью к азолам или другим ингибиторам глюкансинтазы (например, к липопептидным веществам, таким как эхинокандины), что указывает на отличие биологической и молекулярной мишени производных энфумафунгина от молекулярной мишени других ингибиторов глюкансинтазы.

Различные производные энфумафунгина были раскрыты в ряде международных патентных публикаций, например, №№ WO 2007/126900 и WO 2007/127012.

В качестве типичного представителя производных энфумафунгина по изобретению представлено соединение SCY-078, обладающее активностью в отношении ряда видов *Candida* и *Aspergillus*, включая устойчивые к лекарственным средствам штаммы. SCY-078 представляет собой тритерпеноидное производное с замещением карбоновой кислотой и алкиламиноэфиром, имеющее следующую формулу:



Без связи с конкретной теорией, благодаря наличию функциональных групп amino- и карбоновой

кислоты, SCY-078 является амфифильной молекулой и проявляет свойства, подобные поверхностно-активному веществу, включая образование мицелл и связывание с поверхностными белками и белками плазмы.

При внутривенном введении SCY-078 было отмечено возникновение реакций в месте инъекции (далее называемых ISR), включающих боль, раздражение, воспаление и флебит, что исключало введение этого вещества через периферические вены. Хотя основной механизм наблюдаемых ISR не совсем понятен, без связи с конкретной теорией можно объяснить возникновение ISR локальным прямым взаимодействием SCY-078 с эндотелием сосудов в месте инъекции при внутривенном введении SCY-078 в кровеносное русло.

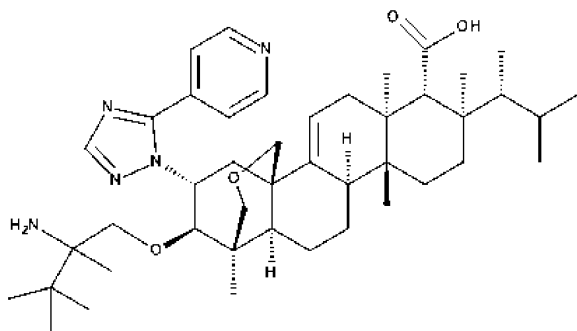
В данной области техники существует потребность в возможности введения SCY-078 и других противогрибковых производных энфумафунгина внутривенно через периферическую вену при уменьшении локальных реакций в месте инъекции и/или при менее выраженных ISR, и в повышении варибельности и удобства для медицинских работников и пациентов.

#### Сущность изобретения

Настоящее изобретение предоставляет инъеклируемые композиции, обладающие противогрибковой активностью, содержащие

водную фазу и

одну или более мономеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(II)

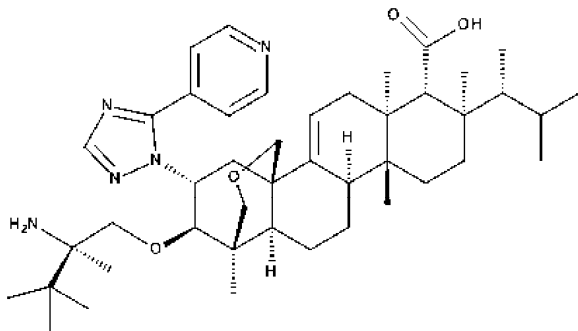
которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту;

где одна или более мономеллярных везикул гидратированы в водной фазе. Уровень pH водной фазы предпочтительно составляет от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,0. Примерами водной фазы являются раствор моносахарида и раствор дисахарида.

Настоящее изобретение также предоставляет инъеклируемые композиции, обладающие противогрибковой активностью, содержащие

водную фазу и

одну или более мономеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(IIa)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

где одна или более мономеллярных везикул гидратированы в водной фазе.

Инъецируемые композиции могут вводиться внутривенно для лечения и/или профилактики грибковых инфекций, таких как системные грибковые инфекции, в том числе вызванные грибами видов *Candida* или *Aspergillus*. Применение инъецируемых композиций по настоящему изобретению отличается тем, что локальные реакции в месте инъекции после внутривенного введения (включающие боль, раздражение, воспаление и флебит) могут быть уменьшены в отношении их количества и/или степени выраженности по сравнению с аналогичными реакциями после внутривенного введения нелипосомальной композиции, содержащей то же самое действующее вещество.

Настоящее изобретение также предоставляет способы лечения грибковой инфекции у нуждающегося в этом субъекта путем внутривенного введения указанных инъецируемых композиций.

Настоящее изобретение дополнительно предоставляет способы получения композиций, содержащих одну или более мономеллярных везикул, в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат.

#### **Подробное описание изобретения**

Фосфолипиды представляют собой амфифильные молекулы, имеющие гидрофильную ионизируемую головку или "полярную головку" и гидрофобный хвост, содержащий длинноцепочечные жирные кислоты. При гидратации несколько фосфолипидных молекул (необязательно с другими молекулами, такими как холестерин) могут образовывать липосомы, которые представляют собой закрытые двухслойные концентрические везикулы, способные захватывать воду или другую водную среду. Хвосты жирных кислот в фосфолипидных молекулах образуют часть внутреннего слоя двухслойной мембраны липосомы. Полярные головки на одной поверхности мембраны ориентированы к водной внутренней среде липосомы, а полярные головки на другой поверхности мембраны ориентированы к водной внешней среде.

Лекарственные вещества, в зависимости от своих физико-химических свойств, могут быть включены в липосому либо внутрь водной среды, либо в липидный бислой, при этом гидрофобные молекулы в основном связаны с липидным бислоем, и/или гидрофильные молекулы включены в водную среду внутри липосомы (например, растворены или диспергированы).

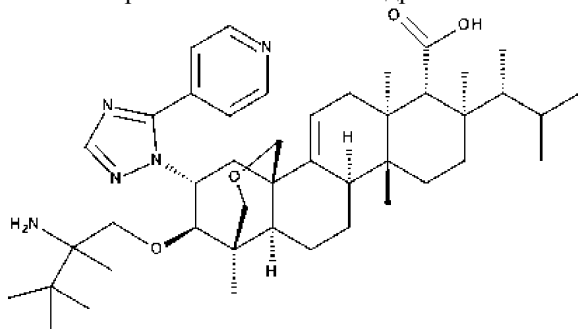
Липосомы могут быть мономеллярными, то есть могут иметь один бислой фосфолипидов, окружающих водный центр, или мультимеллярными, то есть могут содержать несколько концентрических двухслойных везикул, наполненных водным содержимым. Распределение мультимеллярных везикул (MLV) по размерам может быть широким и неоднородным, при этом способ производства таких везикул не поддается воспроизводимости. Для внутривенного введения нежелательно использовать MLV по причине большого размера частиц. Дополнительно, MLV трудно стерилизовать путем фильтрации. Для инъецируемых композиций, предназначенных для внутривенного введения, желательны мономеллярные липосомы, которые имеют относительно небольшие размеры.

Липосомы ранее использовались для доставки лекарств в ткани-мишени и для снижения системной токсичности, но вместе с тем, не было четкого понимания их полезности для снижения ISR, возникающих локально в месте инъекции или инфузии. Кроме того, до настоящего изобретения не было информации о возможности включения в липосомы тритерпеноидов, производных энфумафунгина. Более того, конкретно в отношении SCY-078: этот препарат проявляет высокую степень связывания с белком, и не было известно, будет ли при внутривенном введении SCY-078 происходить высвобождение или вытекание инкапсулированного лекарственного вещества в кровеносное русло; эффективная липосомальная композиция должна иметь липосомы, которые остаются интактными в кровеносном русле в течение достаточного времени, чтобы минимизировать высвобождение или вытекание инкапсулированного лекарственного вещества в месте инфузии. Согласно настоящему изобретению, композиция фосфолипидно-холестериновых везикул, в которых инкапсулированы противогрибковые тритерпеноиды, производных энфумафунгина, такие как SCY-078 или их приемлемая соль, может быть введена внутривенно, и везикулы в кровеносном русле могут оставаться интактными до момента их захвата макрофагами в органах ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), таких как печень, селезенка и другие. Кроме того, ISR могут проявляться при очень низких концентрациях свободного (неинкапсулированного) SCY-078, при этом с помощью настоящего изобретения можно уменьшить степень тяжести и частоту ISR при внутривенном введении SCY-078, сводя к минимуму локальное наличие свободного лекарственного вещества в месте инъекции. В настоящем изобретении рассмотрена инкапсуляция SCY-078 (или его фармацевтически приемлемой соли) или другого тритерпеноидного противогрибкового средства, производного энфумафунгина, в системе на фосфолипидной (ФЛ) основе, например в липосомах, в качестве подхода к уменьшению ISR, возникающих в результате внутривенного введения, при одновременном обеспечении преимуществ противогрибкового средства. В настоящем изобретении препарат SCY-078 может быть инкапсулирован в липосомы с высокой эффективностью, с целью минимизировать количество свободного (неинкапсулированного) лекарственного вещества и сделать липосомальную композицию пригодной для коммерческого производства. Дополнительно, согласно изобретению, физико-химические характеристики липосом являются стабильными, что способствует хранению композиции.

Настоящее изобретение предоставляет инъецируемую композицию, обладающую противогрибко-

вой активностью, содержащую водную фазу и

одну или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) (в настоящем изобретении называемое SCY-078), или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(II)

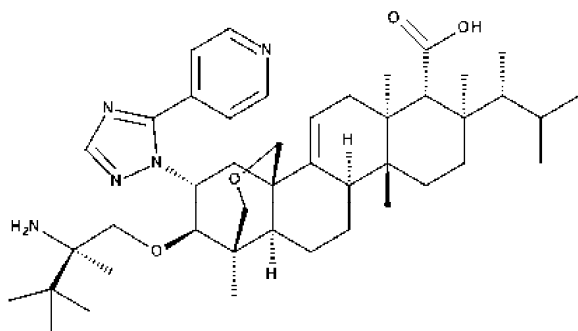
которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додесагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4/7-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-с]пиран-7-карбоновую кислоту, где одна или более моноламеллярных везикул гидратированы в водной фазе.

Уровень pH водной фазы предпочтительно составляет приблизительно от 5,0 приблизительно до 7,0. Примерами водной фазы являются раствор моносахарида и раствор дисахарида. Инъецируемую композицию можно вводить внутривенно для лечения и/или профилактики грибковых инфекций, таких как системные грибковые инфекции, в том числе вызванные видами *Candida* или *Aspergillus*.

Изобретение также предоставляет способы лечения и/или профилактики грибковой инфекции путем внутривенного введения инъецируемой композиции, содержащей одну или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат. Дополнительно, изобретение предоставляет применение везикул с инкапсулированным соединением формулы (II) или его фармацевтически приемлемой солью или гидратом, для получения инъецируемого лекарственного средства для лечения или профилактики грибковой инфекции.

В других предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение предоставляет инъецируемую композицию, содержащую водную фазу и

одну или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(IIa)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-с]пиран-7-карбоновую кислоту,

где одна или более моноламеллярных везикул гидратированы в водной фазе.

Уровень pH водной фазы предпочтительно составляет от приблизительно 5,0 до приблизительно 7,0. Примерами водной фазы являются раствор моносахарида и раствор дисахарида. Инъецируемую композицию можно вводить внутривенно для лечения и/или профилактики грибковых инфекций, таких как системные грибковые инфекции, в том числе вызванные видами *Candida* или *Aspergillus*.

Изобретение также предоставляет способы лечения и/или профилактики грибковой инфекции пу-

тем внутривенного введения инъекционной композиции, содержащей одну или более мономеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин, и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат. Дополнительно, изобретение относится к применению везикул с инкапсулированным соединением формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемой солью или гидратом, для получения инъекционной лекарственной формы для лечения или профилактики грибковой инфекции.

В предпочтительных вариантах осуществления фосфатную соль соединения формулы (II) или (IIa) применяют или вводят согласно настоящему изобретению.

В предпочтительных вариантах осуществления цитратную соль соединения формулы (II) или (IIa) применяют или вводят согласно настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также предоставляет применение инъекционной композиции, содержащей: одну или более мономеллярных везикул, в которых инкапсулировано соединение формулы (II) или (IIa), или его фармацевтически приемлемая соль или их гидрат; и

фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель у субъекта для лечения или профилактики грибковой инфекции.

В приведенных выше вариантах осуществления указанные замены при описании соединений включены только в том случае, если присутствие заместителей обеспечивает стабильность соединений, соответствующих определению.

Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы обладают противомикробной (например, противогрибковой) активностью в отношении дрожжей и других грибов, включая один или более следующих представителей: *Acremonium*, *Absidia* (например, *Absidia conchyliifera*), *Alternaria*, *Aspergillus* (например, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* и *Aspergillus versicolor*), *Bipolaris*, *Blastomyces* (например, *Blastomyces dermatitidis*), *Blastoschizomyces* (например, *Blastoschizomyces capitatus*), *Candida* (например, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida stellatoidea*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Candida famata* и *Candida rugosa*), *Cladosporium* (например, *Cladosporium carrionii* и *Cladosporium trichloides*), *Coccidioides* (например, *Coccidioides immitis*), *Cryptococcus* (например, *Cryptococcus neoformans*), *Curvularia*, *Cunninghamella* (например, *Cunninghamella elegans*), *Dermatophyte*, *Exophiala* (например, *Exophiala dermatitidis* и *Exophiala spinifera*), *Epidermophyton* (например, *Epidermophyton floccosum*), *Fonsecaea* (например, *Fonsecaea pedrosoi*), *Fusarium* (например, *Fusarium solani*), *Geotrichum* (например, *Geotrichum candidum* и *Geotrichum clavatum*), *Histoplasma* (например, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*), *Malassezia* (например, *Malassezia furfur*), *Microsporium* (например, *Microsporium canis* и *Microsporium gypseum*), *Mucor*, *Paracoccidioides* (например, *Paracoccidioides brasiliensis*), *Penicillium* (например, *Penicillium marneffei*), *Phialophora*, *Pityrosporum ovale*, *Pneumocystis* (например, *Pneumocystis carinii*), *Pseudallescheria* (например, *Pseudallescheria boydii*), *Rhizopus* (например, *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* и *Rhizopus oryzae*), *Saccharomyces* (например, *Saccharomyces cerevisiae*), *Scedosporium* (например, *Scedosporium apiospermum*), *Scopulariopsis*, *Sporothrix* (например, *Sporothrix schenckii*), *Trichoderma*, *Trichophyton* (например, *Trichophyton mentagrophytes* и *Trichophyton rubrum*), и *Trichosporon* (например, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon beigeli* и *Trichosporon cutaneum*). Упомянутые соединения полезны не только против организмов, вызывающих у человека системные патогенные грибковые инфекции, но также полезны против организмов, вызывающих поверхностные грибковые инфекции, такие как *Trichoderma* spp. и другие виды *Candida* spp.

Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы обладают противогрибковым действием и по этой причине являются пригодными для лечения и/или профилактики одной или более различных грибковых инфекций наружных покровов, кожи, слизистых оболочек, подкожной клетчатки и системных инфекций, в том числе грибковых инфекций вульвы, влагалища, кожи, глаз, волос, ногтей, слизистой оболочки полости рта, желудочно-кишечного тракта, бронхов, легких, плевры, брюшины, эндокарда, мозга, мозговых оболочек, мочевых органов, области влагалища, ротовой полости, почек, сердца, наружных слуховых каналов, кости, носовой полости, параназальной полости, селезенки, печени, подкожной клетчатки, лимфатических протоков, суставов, мышц, сухожилий, интерстициальных плазматических клеток в легких, крови и т.д.

Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы пригодны для профилактики и лечения одного или более различных инфекционных заболеваний, таких как вульвовагинальный кандидоз (ВВК), дерматофитоз (например, трихофития, стригущий лишай или опоясывающий лишай), паронихия, разноцветный лишай, эритразма, опрелость, грибковый пеленочный дерматит, кандидозный вульвит, кандидозный баланит, наружный отит, кандидоз (кожный и слизисто-кожный), хронический мукоканидоз (например, молочница и вагинальный кандидоз), криптококкоз, геотрихоз, трихоспороз, аспергиллез, пенициллез, фузариоз, зигомикоз, споротрихоз, хромомикоз, кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидомикоз, инфекции, вызываемые *Pseudallescheria*, мицетома, грибковый кератит, отомикоз, пневмоцистоз, грибковый абсцесс, грибковая эмпиема плевры и фунгемия. Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или

гидратные формы также могут применяться в качестве профилактических средств для предотвращения системных и местных грибковых инфекций. Можно рассматривать применение в качестве профилактических средств, например, как часть схемы селективной деконтаминации кишечника при профилактике инфекции у пациентов с ослабленным иммунитетом (например, пациентов со СПИДом, пациентов, получающих противоопухолевое лечение или у пациентов при трансплантации). Также может быть желательным предотвращение чрезмерного роста грибов в период лечения антибиотиками при некоторых патологических синдромах или ятрогенных состояниях.

Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы могут быть получены согласно способам синтеза, раскрытыми в патенте США № 8188085, содержание которого включены в настоящее изобретение в качестве ссылки в полном объеме.

Используемый в настоящем изобретении союз "или" обозначает альтернативы, которые при необходимости могут быть в комбинации.

Если прямо не указано иное, все приведенные в изобретении диапазоны являются включающими.

"Стабильное" соединение представляет собой соединение, которое может быть получено и выделено, и структура и свойства которого остаются, или могут оставаться или практически не изменяться в течение периода времени, достаточного для обеспечения возможности использования соединения для целей, описанных в настоящем изобретении (например, введение субъекту с терапевтической или профилактической целью). В понятие такого соединения также включены стабильные комплексы этого соединения, такие как стабильный гидрат.

В результате выбора заместителей и групп заместителей некоторые из соединений формул (II) и (IIa) могут иметь асимметричные центры и могут встречаться в виде смесей стереоизомеров или в качестве отдельных диастереомеров или энантиомеров. Если не указано иное, в объем настоящего изобретения входят все изомерные формы этих соединений (и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы), как выделенные, так и в смесях. Также в объем настоящего изобретения включены таутомерные формы указанных соединений (и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидраты).

Если в любом компоненте или в формулах (II) или (IIa) какая-либо переменная встречается более одного раза, ее определение в каждом случае не зависит от ее определения в каждом другом случае. Также, комбинации заместителей и/или переменных элементов допустимы только в случае образования стабильных соединений в присутствии таких комбинаций.

Соединения формул (II) и (IIa) и их фармацевтически приемлемые соли и/или гидратные формы также полезны при подготовке и проведении скрининговых анализов противогрибковых соединений. Например, соединения полезны для выделения мутантов, которые являются отличными инструментами скрининга для выявления дополнительных противогрибковых соединений.

Соединения формул (II) и (IIa) можно вводить в форме "фармацевтически приемлемых солей" или гидратов, в зависимости от ситуации. Вместе с тем, для получения соединений или их фармацевтически приемлемых солей могут быть полезны другие соли. Например, если соединения содержат основную аминогруппу, их можно легко выделять в виде солей трифторуксусной кислоты (например, после очистки ВЭЖХ). Превращение солей трифторуксусной кислоты в другие соли, включая фармацевтически приемлемые соли, может быть достигнуто с помощью некоторых стандартных способов, известных в данной области. Например, для получения желаемой соли может быть использована подходящая ионообменная смола. Альтернативно, превращение соли трифторуксусной кислоты в исходный свободный амин можно осуществлять стандартными способами, известными в данной области (например, нейтрализацией подходящим неорганическим основанием, таким как  $\text{NaHCO}_3$ ). Другие желаемые аминные соли могут быть получены обычным способом путем взаимодействия свободного основания с подходящей органической или неорганической кислотой. В качестве примера, фармацевтически приемлемые соли четвертичного аммония включают следующие соли: гидрохлорид, сульфат, фосфат, карбонат, ацетат, тартрат, цитрат, малат, сукцинат, лактат, стеарат, фумарат, гиппурат, малеат, глюконат, аскорбат, адипат, глюцептат, глутамат, глюкоронат, пропионат, бензоат, мезилат, тозилат, олеат, лактобионат, лаурилсульфат, бесилат, каприлат, изетионат, гентизат, малонат, напсилат, эдисилат, памоат, ксинафоат, нападисилат, гидробромид, нитрат, оксалат, циннамат, манделат, ундециленат и камсилат. Многие из соединений формул (II) и (IIa) содержат кислую функциональную группу карбоновой кислоты, и в этом случае их подходящие фармацевтически приемлемые соли могут включать соли щелочных металлов, например, соли натрия или калия; соли щелочноземельных металлов, например, соли кальция или магния; и соли, образованные с подходящими органическими лигандами, например, соли четвертичного аммония.

Настоящее изобретение включает применение пролекарств, имеющих формулы (II) и (IIa). Обычно такие пролекарства являются функциональными производными соединений, которые легко превращаются *in vivo* в требуемое соединение. Таким образом, в способах лечения по настоящему изобретению термин "введение" охватывает лечение различных описанных состояний с помощью конкретно раскрытого соединения или с помощью соединения, которое превращается в указанное соединение *in vivo* после введения пациенту. Общепринятые способы отбора и получения подходящих производных пролекарств описаны, например, в руководстве "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985, которое полностью включено в настоящее изобретение посредством ссылки. Метаболиты соединений формул (II) и

(IIa) включают активные вещества, продуцируемые при введении этих соединений в биологическую среду.

Термин "введение" и его варианты (например, "вводить" соединение) означает доставку соединения или пролекарства этого соединения в организм нуждающегося в лечении субъекта. Если соединение формулы (II) и (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль, или его гидрат или пролекарство вводится в комбинации со вторым активным веществом (например, с другим противогрибковым и/или антибактериальным средством, полезным для лечения грибковых и/или бактериальных инфекций), то термин "введение" и его варианты включают одновременное и последовательное введение этого соединения (или его соли, гидрата или пролекарства) и другого активного вещества.

Используемый в изобретении термин "композиция" относится к продукту, содержащему указанные ингредиенты, а также к любому продукту, который прямым или опосредованным образом возникает в результате объединения указанных ингредиентов.

Понятие "фармацевтически приемлемый" означает, что ингредиенты фармацевтической композиции должны быть совместимы друг с другом и не причинять вреда реципиенту.

Используемое в изобретении понятие "субъект" (альтернативно называемый в изобретении "пациент") относится к животному, предпочтительно млекопитающему, наиболее предпочтительно к человеку, который подвергается лечению, наблюдению или эксперименту.

Используемое в изобретении понятие "эффективное количество" означает количество активного ингредиента или фармацевтического вещества, вызывающее в ткани, системе, у животного или человека биологический или клинический ответ, который стремится достичь исследователь, ветеринар, врач или другой клинический специалист. В одном варианте осуществления "эффективное количество" может представлять собой терапевтически эффективное количество, которое ослабляет симптомы заболевания или состояния, подлежащего лечению. В другом варианте осуществления "эффективное количество" может представлять собой профилактически эффективное количество для профилактики симптомов предотвращаемого заболевания или состояния, или для уменьшения вероятности его возникновения. Термин может также относиться к эффективному ингибирующему количеству производного энфумафунгина, которое достаточно для ингибирования (1,3)- $\beta$ -D-глюкансинтазы и тем самым вызывает желательный ответ.

Понятия "лечить", "лечение" и их варианты обычно относятся к лечению, которое после его осуществления приводит к исчезновению или улучшению одного или более признаков или симптомов, связанных с грибковой инфекцией, или приводит к уничтожению грибов, вызывающих инфекцию, или к этим результатам в любой комбинации.

Для профилактики или лечения грибковой инфекции соединение формулы (II) или (IIa) (необязательно в форме соли или гидрата) можно вводить общепринятыми способами, доступными для применения в сочетании с фармацевтическими средствами.

С целью профилактики или лечения грибковых инфекций, возникающих в условиях или в анатомических областях, имеющих кислую реакцию pH, соединение формулы (II) или (IIa) (необязательно в форме соли или гидрата) можно вводить по отдельности в качестве самостоятельного терапевтического средства, или совместно с одним или более другими противогрибковыми веществами (последовательно или одновременно) в виде комбинации терапевтических средств.

С целью профилактики или лечения грибковой инфекции соединение формулы (II) или (IIa) (необязательно в форме соли или гидрата) можно вводить вместе с фармацевтическим носителем, выбранным исходя из предпочтительного пути введения и стандартной фармацевтической практики.

Например, соединения формул (II) и (IIa) и фармацевтические формы их солей и/или гидратов можно вводить с помощью одного или более следующих путей: перорально парентерально (включая подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, внутриочаговые инъекции или инфузионное введение), путем ингаляции (например, с помощью назального или буккального ингаляционного спрея, аэрозольного дозированного ингалятора и сухого порошкового ингалятора), через небулайзер, окулярно, местно, чрескожно или ректально, в форме стандартной дозы фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество соединения и обычных нетоксичных фармацевтически приемлемых носителей, адъювантов и наполнителей. Жидкие препараты, подходящие для перорального применения (например, суспензии, сиропы, эликсиры и тому подобное) могут быть получены в соответствии с известными в данной области методиками, при этом можно использовать обычные среды, такие как вода, гликоли, масла, спирты и тому подобное. Твердые препараты, подходящие для перорального введения (например, порошки, пилюли, капсулы и таблетки), могут быть получены в соответствии с известными в данной области методиками, при этом можно использовать такие твердые наполнители, как крахмалы, сахара, каолин, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и тому подобное. Парентеральные композиции могут быть получены в соответствии с известными в данной области методиками, при этом в качестве носителя обычно используют стерильную воду и, необязательно, другие ингредиенты, например, вещество, способствующее растворимости. Растворы для инъекций могут быть получены в соответствии с известными в данной области способами, в которых носитель включает физиологический раствор, раствор глюкозы или раствор, содержащий смесь физиологического раствора и глюкозы.



Дополнительное описание подходящих для использования с целью получения фармацевтических композиций способов и ингредиентов, полезных для применения в указанных композициях, приведено в руководстве Remington's Pharmaceutical Sciences, 20<sup>е</sup> издание, под ред. A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 2000.

Соединения формул (II) и (III) и фармацевтически приемлемые формы их солей и/или гидратов можно вводить, например, перорально или внутривенно, в дозах в диапазоне, например, от 0,001 до 1000 мг/кг массы тела млекопитающего (например, человека) в день, в виде однократной дозы или в разделенных дозах. Пример диапазона доз составляет от 0,01 до 500 мг/кг массы тела в сутки перорально или внутривенно в однократной дозе или в разделенных дозах. Другой пример диапазона доз составляет от 0,1 до 50 мг/кг массы тела в сутки перорально или внутривенно в однократных или разделенных дозах. Композиции для перорального введения могут быть представлены в виде таблеток или капсул, содержащих, например, от 1,0 до 1000 мг активного ингредиента, в частности 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750 и 1000 мг активного ингредиента для корректировки дозы в соответствии с симптоматикой у пациента, подлежащего лечению. Конкретный уровень дозы и частота приема для каждого конкретного пациента могут варьироваться и зависят от множества факторов, включая активность конкретного применяемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия этого соединения, способ и время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, степень тяжести конкретного состояния, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и рацион питания пациента и тип организма-хозяина, подлежащего такому лечению.

Противогрибковую активность соединений можно продемонстрировать с помощью разных анализов, известных в данной области, например, в анализе минимальной ингибирующей концентрации (MIC) против дрожжей и в анализе минимальной эффективной концентрации (MEC) против нитевидных плесеней и дерматофитов с микродилуцией бульона, или с помощью оценки действия этих соединений против *Candida* и против *Aspergillus in vivo* на мышах или кроликах. Было обнаружено, что соединения формулы (I), приведенные в примерах патента США № 8188885, обычно ингибируют рост *Candida spp.* в диапазоне концентрации ниже, чем от 0,03 до 32 пг/мл, или при показателях MEC против *Aspergillus fumigatus* в диапазоне ниже, чем от 0,03 до 32 пг/мл.

Везикулы или липосомы с одиночным бислоем, в которых инкапсулированы тритерпеноидные противогрибковые соединения - производные энфумафунгина согласно настоящему изобретению, предпочтительно имеют средний размер частиц (диаметр везикулы) приблизительно 150 нм или меньше, более предпочтительно, приблизительно от 100 нм или меньше, или приблизительно от 70 до 80 нм. Везикулы гидратированы в подходящей водной фазе, например, в воде, содержащей моносахарид или дисахарид. Для гидратации везикул подходит любая водная фаза с низкой ионной силой. Водная фаза предпочтительно является изотонической. Уровень pH водной фазы должен составлять приблизительно от 4,0 до 8,0 и предпочтительно приблизительно от 5,0 до 7,0.

Способы получения везикул или липосом с одиночным бислоем включают способы, в которых обеспечена достаточная для образования моноламельлярных везикул энергия и сила сдвига (такие как обработка ультразвуком, гомогенизация под высоким давлением, микрофлюидное смешивание и т.д.). Везикулы с одиночным бислоем по изобретению могут быть получены путем обработки ультразвуком, микрофлюидного смешивания и/или гомогенизации гидратированных суспензий, содержащих противогрибковое вещество - производное энфумафунгина (например, соединение формулы (II) или (III) или их фармацевтически приемлемую соль или гидрат), фосфолипид и холестерин. В предпочтительных вариантах осуществления препарат SCY-078 (или его фармацевтически приемлемую соль или гидрат), фосфолипид (ФЛ) и холестерин (ХОЛ) суспендируют в водной фазе с показателем pH приблизительно от 5,0 до 7,0 и молярным соотношением SCY-078:ФЛ:ХОЛ, составляющим 1:7:2,5, и подвергают ультразвуковой обработке, микрофлюидному смешиванию, гомогенизации и/или применяют другой способ, в результате которого можно получить везикулы с одиночным бислоем, содержащие фосфолипид и холестерин, с инкапсулированным SCY-078 (или его солью или гидратом) внутри везикулы. Предпочтительным лекарственным средством для инкапсулирования в везикулах с одиночным бислоем по изобретению является цитратная соль SCY-078.

Для образования везикул с одиночным бислоем по изобретению можно использовать единственный вид фосфолипидов, или можно использовать разные два или более видов фосфолипидов в комбинации для образования везикул с одиночным бислоем. Фосфолипиды, подходящие для использования в целях получения везикул с одиночным бислоем по изобретению включают без ограничения вещества, полученные синтетически или вещества природного происхождения, такие как фосфатидилхолин (PC), фосфатидная кислота (PA), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилэтаноламин (PE) и фосфатидилглицерин (PG).

Фосфолипиды, используемые для образования везикул с одиночным бислоем по изобретению, предпочтительно представляют собой PC и PG, применяемые в комбинации.

Подходящие фосфатидилхолины включают без ограничения дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), полученный из синтетического сырья, дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), дилауроилфосфатидилхолин (DLPC) и димиристоилфосфатидилхолин (DMPC). Фосфатидилхолины природного происхождения представляют собой яичный PC и соевый PC.

Подходящие фосфатидилглицерины включают без ограничения синтетически полученные дипальмитоилфосфатидилглицерин (DPPG), дистеароилфосфатидилглицерин (DSPG), дилауроилфосфатидилглицерол (DLPG) и димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG), и фосфатидилглицерины природного происхождения, например, яичный PG.

Предпочтительно, содержание фосфолипидов в везикулах с инкапсулированными производными энфумафунгина по настоящему изобретению составляет от 50 до 80 мол. %.

Холестерин стабилизирует липидный бислои и может предотвращать вытекание инкапсулированного лекарственного средства, но вместе с тем, избыточное количество холестерина может отрицательно влиять на эффективность инкапсулирования. Предпочтительно содержание холестерина в везикулах с инкапсулированными производными энфумафунгина по изобретению составляет от 10 до 30 мол. %.

Предпочтительно содержание лекарственного средства в везикулах с инкапсулированными производными энфумафунгина по изобретению составляет от 5 до 12 мол. %.

Везикулы с одиночным бислоем, в которых инкапсулировано тритерпеноидное противогрибковое соединение - производное энфумафунгина, гидратированы в водной фазе. Предпочтительно, водная фаза содержит один или более моносахаридов (таких как глюкоза, фруктоза и галактоза) и/или один или более дисахаридов (таких как сахароза, трегалоза и лактоза), которые делают изотоничными инъецируемые композиции (везикулы с одиночным бислоем с инкапсулированным лекарством и гидратированные в водной фазе) и могут улучшать стабильность бислоя. При использовании в водной фазе моносахарида (моносахаридов) их предпочтительно количество составляет приблизительно от 4 до 6% (вес/об.) по отношению к инъецируемой композиции (везикулы с инкапсулированным лекарством, гидратированные в водной фазе). При использовании в водной фазе дисахаридов их предпочтительно количество составляет приблизительно от 8 до 10% (вес/об.) по отношению к инъецируемой композиции (везикулы с инкапсулированным лекарством, гидратированные в водной фазе).

Предпочтительно, концентрация инкапсулированного лекарственного средства, выраженная в мг на мл инъецируемой композиции (гидратированные в водной фазе везикулы с одиночным бислоем, в которых инкапсулировано лекарство), составляет от 0,01 до 50 мг/мл и более предпочтительно от 0,1 до 5 мг/мл.

Для получения липидной дисперсии, содержащей противогрибковое средство - производное энфумафунгина, фосфолипид и холестерин растворяют в органическом растворителе, таком как спирт C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> (предпочтительно, в метаноле или этаноле), и указанный раствор добавляют к раствору противогрибкового средства - производному энфумафунгина в органическом растворителе, например, в этаноле. Альтернативно, противогрибковое средство можно добавлять непосредственно к раствору фосфолипида и холестерина. Для получения липидной дисперсии, содержащей противогрибковое средство, растворитель выпаривают (необязательно в вакууме) в подходящем реакционном сосуде, таком как круглодонная колба. Растворитель можно удалять другими способами, например, с помощью распылительной сушилки. Предпочтительно, если липидная дисперсия, содержащая противогрибковое средство - производное энфумафунгина, является стабильной с возможностью ее хранения. Также является удобным, если такую липидную дисперсию можно гидратировать в любое желаемое время и подвергать другой обработке для образования липосом.

Липидная дисперсия, содержащая противогрибковое средство, подвергается гидратации в водном растворе, предпочтительно содержащем моносахарид или дисахарид, для получения гидратированной суспензии. Гидратированную суспензию смешивают с помощью смесителя с высоким усилием сдвига (например, приблизительно 10000 об/мин), и полученные в результате мультиламеллярные везикулы подвергают гомогенизации под высоким давлением (например, приблизительно от 10000 приблизительно до 30000 фунт/кв.дюйм (приблизительно от 68,95 приблизительно до 206,8 МПа) и при температуре обработки в диапазоне, например, приблизительно от 25°C приблизительно до 70°C) для образования везикул с одиночным бислоем (моноламеллярных везикул). Такие везикулы с одиночным бислоем можно стерилизовать, например, путем фильтрации через фильтры 0,45 и 0,22 мкм, и/или стерилизовать влажным теплом. Отфильтрованную суспензию везикул с одиночным бислоем можно замораживать и дегидратировать в глубоком вакууме (лиофилизировать) для длительного хранения.

Количество противогрибкового средства, инкапсулированного в везикулах, которые получены в соответствии со способами по изобретению, можно определять, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Размер везикул можно определять, например, с помощью технологии рассеяния света, например, динамического рассеяния света (ДРС).

Проводилась оценка локальной переносимости (ISR) везикул с одиночным бислоем, в которых инкапсулировано противогрибковое средство - производное энфумафунгина, при внутривенном введении животным моделям, включая крыс и кроликов. Для оценки локальной переносимости проводилась клиническая и гистопатологическая оценка тканей в месте инфузии. Также для демонстрации полезности инъецируемых композиций по изобретению была определена стабильность везикул в условиях, имитирующих инфузию везикул в кровеносное русло.

### Примеры

Следующие примеры приведены исключительно для иллюстрации изобретения и его осуществления. Примеры не следует рассматривать как ограничение объема или сущности изобретения.

Приготовление липосом с инкапсулированным SCY-078.

Примеры от А до I.

В примерах от А до I: фосфолипидную смесь, включающую DSPC и DSPG, и холестерин и производное энфумафунгина SCY-078 в разных молярных соотношениях, как показано в табл. 1, растворяли в растворителе (этанол при 70°C) и подвергали микрофлюидному смешиванию (NanoAssemblr™) с водой в объемном соотношении 1:3 растворитель: вода при 65°C при скорости потока 10 мл/мин с образованием везикул или липосом с одиночным бислоем, несущих SCY-078 (SCY-078-инкапсулированных). Растворитель и свободное (неинкапсулированное) вещество в липосомной суспензии удаляли путем тангенциальной поточной фильтрации (TFF).

Примеры от J до P.

В примерах J и K применялись способы гидратации тонких пленок. Фосфолипидную смесь, включающую DSPC и DSPG, и холестерин и SCY-078 в количествах согласно таблице 2 растворяли в этаноле при 70°C. В качестве подходящего реакционного сосуда использовали круглодонную колбу, из которой удаляли растворитель выпариванием в вакууме и получали липидную дисперсионную пленку, содержащую противогрибковое средство.

В примерах с L по P растворитель удаляли распылительной сушкой. Фосфолипидную смесь, включающую DSPC и DSPG, и холестерин и SCY-078 в количествах согласно табл. 2 растворяли в этаноле при 70°C и смешивали с образованием однородной коллоидной дисперсии. Дисперсию распыляли в виде мелкодисперсного тумана с потоком 20 мл/мин через сопло 0,7 мм при давлении распыления приблизительно 70 фунтов на квадратный дюйм (482,6 кПа) и высушивали при температуре приблизительно 50°C. Высушенный распылением порошок собирали и высушивали в вакууме до постоянной массы.

В примерах с J по P липидную дисперсию, содержащую противогрибковое вещество, полученное путем испарения тонкой пленки или распылительной сушки, гидратировали в водном растворе, содержащем 7,5% (вес/объем) сахарозы. Для образования везикул с одиночным бислоем гидратированную суспензию смешивали с помощью мешалки с высоким сдвиговым усилием при 10000 об/мин в течение приблизительно 5 минут, и полученные в результате мультиламеллярные везикулы подвергали гомогенизации под высоким давлением (Microfluidics®) при давлении в диапазоне приблизительно от 10000 приблизительно до 30000 фунт/кв.дюйм (приблизительно от 68,95 приблизительно до 206,8 МПа), изменяя температуру обработки в диапазоне приблизительно от 25°C приблизительно до 70°C.

Полученные в примерах M, O и P липосомы подвергали стерилизации фильтрованием через фильтр 0,45 мкм и 0,22 мкм. Липосомы в примере M лиофилизировали. Липосомы в примере N стерилизовали влажным теплом при 121°C в течение 12 мин.

Характеристика липосом с инкапсулированным SCY-078.

Проводили оценку композиций с разными молярными соотношениями DSPC : холестерин : DSPG : SCY-078, как показано в табл. 1 и 2, в отношении образования везикул с одиночным бислоем, распределения частиц по размерам, поверхностного заряда и количества инкапсулированного SCY-078.

После образования везикул или липосом свободный (неинкапсулированный) SCY-078 удаляли путем TFF (примеры от А до I). В случаях получения везикул или липосом без применения TFF весь неинкапсулированный препарат SCY-078 отделяли от инкапсулированного SCY-078 путем диализа с использованием эфирцеллюлозной мембраны с отсечкой по молекулярной массе (MWCO) 20000 Дальтон.

Инкапсулированный в липосомы SCY-078 отделяли от любого неинкапсулированного SCY-078 с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру с использованием колонки Sephadex® G-25. Количество инкапсулированного в липосомы SCY-078 определяли путем анализа ВЭЖХ. Препарат SCY-078 отделяли на колонке C18 и проводили детекцию с помощью ультрафиолетовой (УФ) спектроскопии при 210 нм. Размер частиц везикул определяли с помощью DLS (Zetasizer Nano, Malvern Instruments). Поверхностный заряд (дзета-потенциал) определяли способом лазерного доплеровского микроэлектрофореза в одноразовой электрофоретической ячейке.

Как показано в табл. 1 и 2, в ряде композиций с определенными молярными соотношениями DSPC : холестерин : DSPG : SCY-078 было выявлено образование липосомальных везикул или липосом с одиночным бислоем с эффективностью захвата более 95%. Неожиданно было выявлено по существу отсутствие свободного (неинкапсулированного) лекарственного вещества, даже если способ получения не включал стадию удаления любого неинкапсулированного лекарственного вещества (примеры J-O). Также неожиданно показано, что везикулы оставались стабильными после стерилизации влажным теплом, без изменения размера везикул и сохранением > 95% SCY-078 в везикулах (пример N).

Таблица 1

Композиции липосом, полученные микрофлюидным смешиванием с помощью оборудования NanoAssembler™

	Молярное соотношение	моль%					
<b>Пример</b>	SCY-078: PG : PC : CHOL	SCY-078	ФЛ	ХОЛ	Средний размер частиц (нм)	Дзета-потенциал (заряд, мВ)	% инкапсулированного SCY-078
<b>A</b>	1:1: 2,5: 1,25	17,4	60,9	21,7	4527,3	-26,31	49,3
<b>B</b>	1:0,5: 5:2,5	11,1	61,1	27,8	4359	-6,43	58,3
<b>C</b>	1:1,2: 3:1,5	14,9	62,7	22,4	175,5	-31,59	82,3
<b>D</b>	1:1:5: 2,5	10,5	63,2	26,3	173,3	-37,93	81,7
<b>E</b>	1:1,5: 3,75: 1,87	12,3	64,7	23	89,6	-39,72	98,0
<b>F</b>	1:1,6: 4:2	11,6	65,1	23,3	104,7	-47,05	95,7
<b>G</b>	1:2:5: 2,5	9,5	66,7	23,8	124,9	-53,34	96,3
<b>H</b>	1:3:5: 2,5	8,7	69,7	21,6	146,0	-59,33	98,3
<b>I</b>	1:2:5: 1,25	10,8	75,7	13,5	122,0	-48,19	97,7

Таблица 2

Композиции липосом, полученные гомогенизацией при высоком давлении в устройстве для микрофлюидизации

	Молярное соотношение	моль%					
<b>Пример</b>	SCY-078: PG : PC : CHOL	SCY-078	ФЛ	ХОЛ	Средний размер частиц (нм)	Дзета-потенциал (заряд, мВ)	% инкапсулированного SCY-078
<b>J</b>	1:1,5: 3,75: 11,87	12,3	64,7	23	81,6	-32,0	99
<b>K</b>	1:2:5: 2,5	9,5	66,7	23,8	91,2	-47,2	96
<b>L</b>	1:2:5: 2,5	9,5	66,7	23,8	95	-54,0	99
<b>M</b>	1:2:5: 2,5	9,5	66,7	23,8	98	-	99
<b>N</b>	1:2:5: 1,25	9,5	66,7	23,8	100	-55,6	>95
<b>O</b>	1:2:5: 1,25	9,5	66,7	23,8	51,1	-47,3	>99
<b>P</b>	1:2:5: 1,25	9,5	66,7	23,8	78	-74,1	>95

Оценка физико-химической стабильности содержащей SCY-078 липидной дисперсии после распылительной сушки.

Стабильность высушенного распылением промежуточного продукта (липидная дисперсия, содержащая SCY-078) оценивали при хранении в условиях окружающей среды (25°C/60% относительной влажности (ОВ)) и способом "ускоренного старения" (40°C/75% относительной влажности). Как показано в табл. 3, высушенный распылением промежуточный продукт был стабильным в анализах на SCY-078 и образование продуктов разложения, при этом не наблюдалось каких-либо существенных изменений или тенденций в течение до 3 месяцев при хранении в условиях окружающей среды (25°C/60% ОВ) и в ускоренных условиях хранения (40°C/75% ОВ). Эти результаты показывают, что высушенный распылением промежуточный продукт можно удобно хранить, например, в условиях окружающей среды, до гид-

ратации и другой обработки с целью получения липосом, что является коммерчески желательным свойством.

Таблица 3  
Оценка стабильности высушенной распылением дисперсии SCY-078

Анализ	Исходные условия	3 месяца	
		25 °C/60% ОВ	40 °C/75% ОВ
Внешний вид (визуально)	Белый тонкодисперсный порошок	Белый порошок	Белый порошок
Анализ (мг/г) SCY-078 в виде свободного основания	89,2	92,2	90,7
<b>Продукты разложения</b>			
Индивидуальные\(\установленные и неустановленные) <sup>A</sup>	Нет примесей > 0,1%	Нет примесей > 0,1%	Нет примесей > 0,1%
Всего	Нет примесей > 0,1%	Нет примесей > 0,1%	Нет примесей > 0,1%
Содержание воды (%)	2,3	1,8	3,1

A: отчет по показателям продуктов разложения  $\geq 1\%$  площади (за исключением пиков, присутствующих на том же уровне или ниже уровня активного действующего вещества (API)).

Оценка физико-химической устойчивости липосом с инкапсулированным SCY-078.

Проводили оценку стабильности в условиях охлаждения (от 2 до 8°C) готовой к разбавлению липосомальной суспензии с инкапсулированными SCY-078. Как показано в табл. 4, не выявлено изменений в анализе SCY-078 и в значениях среднего размера частиц. Дополнительно, при хранении не отмечено вытекание инкапсулированного лекарственного средства, что свидетельствует о сильной связи SCY-078 с липидным бислоем липосом. Эти результаты демонстрируют стабильность и потенциальную долгосрочную стабильность, что подходит для различных коммерческих применений липосомальных композиций по изобретению.

Таблица 4  
Оценка стабильности инъекционной формы липосом с SCY-078 (концентрация 4 мг/мл)

Пример	Условия хранения	Время хранения	Анализ (мг/мл)	Средний размер частиц (нм)	% инкапсуляции
N	от 2°C до 8°C	исходное	3,8	100	> 95%
N		3 месяца	3,78	89,6	--
O	от 2°C до 8°C	исходное	3,80	51,1	> 99%
O		6 месяцев	4,00	53,4	> 99%

Оценка физиологической стабильности липосом с инкапсулированным SCY-078.

Стабильность везикул или липосом с инкапсулированным SCY-078 оценивали путем инкубации липосом в свежей 50% бычьей сыворотке в течение 24 ч при 37°C. Фракции липосом отделяли от компонентов сыворотки с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру на колонке Sephadex®G-25. Собранные фракции липосом и сыворотки анализировали на содержание SCY-078 с помощью ВЭЖХ. Результаты, представленные в табл. 5, демонстрируют, что, несмотря на то, что SCY-078 не обнаружен во фракциях сывороточного белка, по существу все номинальное количество SCY-078 было извлечено из липосомных фракций. Учитывая высокую степень связывания белка с помощью SCY-078, эти результаты неожиданно показали, что в условиях, имитирующих внутривенное введение в кровеносное русло, SCY-078 остается инкапсулированным в интактных липосомах.

Оценка местной стабильности липосом с инкапсулированным SCY-078 на животных моделях.

Исследование локальной переносимости при внутривенной инфузии у крыс Sprague Dawley.

В течение 14 дней проводили исследование внутривенного вливания у крыс. Животным вводили препарат SCY-078, инкапсулированный в липосому (10 или 40 мг/кг/день), или SCY-078 в растворе (10 или 40 мг/кг/ день) или контрольный физиологический раствор. Введение животным осуществляли через постоянные катетеры, хирургически имплантированные в полую вену, таким образом, оценка ответа в месте инфузии была основана на гистологическом выявлении сосудистого воспаления. В целом, частота и тяжесть сосудистого воспаления увеличилась для SCY-078, вводимого в виде раствора, по сравнению с показателями сосудистого воспаления у животных, получавших физиологический раствор; при этом у животных, которым вводили инкапсулированный в липосому SCY-078, сосудистое воспаление не наблюдалось (табл. 6).

Исследование местного внутривенного раздражения у новозеландских белых кроликов.

В этом исследовании оценивали местное раздражение при введении контрольного физиологического контроля, SCY-078 в дозе 40 мг/кг в растворе и инкапсулированного в липосому SCY-078 (10 или 40 мг/кг), при схеме введения два раза в день (с интервалом 6 ч  $\pm$  15 мин). Указанные дозы вводили новозеландским белым кроликам путем внутривенной инфузии в течение одного часа со скоростью 20 мл/ч через постоянный катетер в течение пяти дней подряд.

При внутривенной инфузии SCY-078, вводимого в виде раствора в дозе 40 мг/кг в течение 1 ч два раза в день возникали неблагоприятным локальные реакции в месте инфузии и окружающей области, проявлявшиеся в виде очень слабого/слабого/до тяжелого отека и эритемы, которые привели к незапланированной эвтаназии всех животных в этой группе сразу после первого дня введения. Напротив, животные, которым два раза в день проводили внутривенную инфузию инкапсулированного в липосому SCY-078 в дозах 10 и 40 мг/кг, смогли завершить запланированное 5-дневное исследование при хорошей переносимости композиции.

Результаты исследования местной переносимости на животных показали, что инкапсулированный в липосомы SCY-078 переносится лучше, чем SCY-078 в растворе, в отношении сосудистого воспаления и ISR в месте инфузии и может подходить для внутривенного введения через периферическую вену.

Таблица 5

Стабильность липосом с инкапсулированным SCY-078  
после инкубации в фетальной бычьей сыворотке при 37°C

Время инкубации в сыворотке при 37 °C (часы)	Выделенный SCY-078 в сыворотке (%) Фракции (0-29)	Выделенные липосомы в сыворотке (%) Фракции (0-29)	Выделенный SCY-078 в липосоме (%) Фракции (29-80) <sup>1</sup>
0 часов	<LOD	<LOD	112
1 час	<LOD	<LOD	90
2 часа	<LOD	<LOD	118
4 часа	<LOD	<LOD	98
8 часов	<LOD	<LOD	91
24 часа	<LOD	<LOD	96
		В среднем	100,83

<sup>1</sup> Количество выделенного SCY-078, нормализованное по выделенным липосомам. Предел обнаружения LOD:SCY=0,036 мкг/мл; липосомы=0,017 пг/мл.

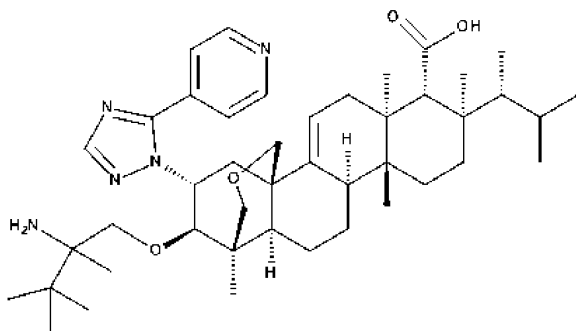
Таблица 6

Сосудистое воспаление в месте инфузии у крыс Sprague Dawley

Обозначение группы	Контроль (физраствор)	SCY-078 в растворе		SCY-078 в липосоме	
		10	40	10	40
Доза (мг/кг/день)	0	10	40	10	40
<i>Место инфузии, от черепа до кончика катетера</i>					
Всего	0/4	2/4	2/4	0/4	0/4
Минимальное	0	2	1	0	0
Умеренное	0	0	1	0	0
<i>Место инфузии, на кончике катетера</i>					
Всего	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4
Умеренное	0	1	0	0	0
<i>Место инфузии, от хвоста до кончика катетера</i>					
Всего	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Минимальное	0	0	0	0	0

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Инъецируемая композиция, обладающая противогрибковой активностью, содержащая водную фазу и одну или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(II)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,SR,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-с]пиран-7-карбоновую кислоту;

где одна или более моноламеллярных везикул гидратированы в водной фазе.

2. Инъецируемая композиция по п.1, в которой концентрация инкапсулированного соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата в инъецируемой композиции составляет от 0,01 до 50 мг/мл.

3. Инъецируемая композиция по п.1, в которой водная фаза дополнительно содержит сахар.

4. Инъецируемая композиция по п.3, в которой сахар выбран из моносахаридов, дисахаридов и их комбинаций.

5. Инъецируемая композиция по п.4, в которой сахар выбран из сахарозы, трегалозы, лактозы, глюкозы, фруктозы и галактозы и их комбинаций.

6. Инъецируемая композиция по п.3, в которой уровень pH водной фазы находится в диапазоне от 5,0 до 7,0.

7. Инъецируемая композиция по п.1, в которой фосфолипид представляет собой фосфатидилхолин, фосфатидную кислоту, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин или их комбинации.

8. Инъецируемая композиция по п.1, в которой фосфолипид представляет собой фосфатидилхолин и фосфатидилглицерин.

9. Инъецируемая композиция по п.8, в которой фосфатидилхолин выбран из дипальмитоилфосфатидилхолина, дистеароилфосфатидилхолина, яичного фосфатидилхолина, соевого фосфатидилхолина, дилауроилфосфатидилхолина и димиристоилфосфатидилхолина.

10. Инъецируемая композиция по п.8, в которой фосфатидилглицерин выбран из дипальмитоилфосфатидилглицерина, дистеароилфосфатидилглицерина, дилауроилфосфатидилглицерина и димиристоилфосфатидилглицерина.

11. Инъецируемая композиция по п.1, в которой соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат присутствует в везикулах в количестве от 5 до 12 мол.%, фосфолипид присутствует в везикулах в количестве от 50 до 80 мол.% и холестерин присутствует в везикулах в количестве от 10 до 30 мол.%.

12. Инъецируемая композиция по п.1, в которой фосфолипид включает фосфатидилглицерин и фосфатидилхолин, и молярное соотношение соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата к фосфатидилглицерину, к фосфатидилхолину, к холестерину составляет 1:2:5:2,5.

13. Инъецируемая композиция по п.1, в которой средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет менее чем 150 нм.

14. Инъецируемая композиция по п.13, в которой средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет менее чем 100 нм.

15. Инъецируемая композиция по п.14, в которой средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет от 70 до 80 нм.

16. Инъецируемая композиция по п.1, в которой концентрация инкапсулированного соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата в инъецируемой композиции составляет от 0,01 до 50 мг/мл; фосфолипид включает фосфатидилглицерин и фосфатидилхолин; молярное соотношение соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата к фосфатидилглицерину, фосфатидилхолину, к холестерину составляет 1:2:5:2,5; и водная фаза дополнительно содержит сахар и имеет уровень pH от 5,0 до 7,0.

17. Инъецируемая композиция по п.16, в которой в одной или более моноламеллярных везикулах инкапсулирована цитратная соль соединения формулы (II).

18. Способ лечения грибковой инфекции у нуждающегося в этом субъекта, где указанный способ включает внутривенное введение инъецируемой композиции по п.1.

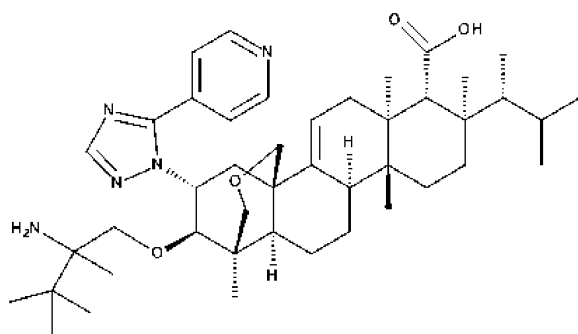
19. Способ по п.18, в котором субъектом является человек.

20. Способ по п.18, в котором грибковая инфекция вызвана *Candida* spp.

21. Способ по п.18, в котором грибковая инфекция вызвана *Aspergillus* spp.

22. Способ лечения грибковой инфекции у нуждающегося в этом субъекта, где указанный способ включает внутривенное введение инъецируемой композиции по п.16.

23. Способ получения инъецируемой композиции, содержащей одну или более моноламеллярных везикул, в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(II)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-с]пиран-7-карбоновую кислоту;

указанный способ включает:

а) растворение фосфолипида и холестерина в алифатическом спирте, имеющем от одного до пяти атомов углерода, с образованием первого раствора;

б) растворение соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата в первом растворе с образованием второго раствора;

с) смешивание второго раствора;



d) выпаривание растворителя из второго раствора с получением дисперсии фосфолипид-холестерин, содержащей соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль или гидрат;

e) гидратирование дисперсии фосфолипид-холестерин, содержащей соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль или гидрат, раствором сахара с получением гидратированной суспензии; и

f) образование из гидратированной суспензии одной или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин и в которой инкапсулировано соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат.

24. Способ по п.23, в котором алифатический спирт выбран из метанола или этанола.

25. Способ по п.23, в котором раствор сахара содержит сахар, выбранный из моносахаридов, дисахаридов и их комбинаций.

26. Способ по п.25, в котором сахар выбран из сахарозы, трегалозы, лактозы, глюкозы, фруктозы и галактозы и их комбинаций.

27. Способ по п.23, в котором 90% или более от количества соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, присутствующего на стадии (b), инкапсулируется на стадии (f) в одну или более моноламеллярных везикул.

28. Способ по п.23, в котором 95% или более от количества соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, присутствующего на стадии (b), инкапсулируется на стадии (f) в одну или более моноламеллярных везикул.

29. Способ по п.23, в котором соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат присутствует в везикулах в количестве от 5 до 12 мол. %.

30. Способ по п.23, в котором фосфолипид включает фосфатидилглицерин и фосфатидилхолин и в котором молярное соотношение соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата к фосфатидилглицерину, к фосфатидилхолину, к холестерину составляет 1:2:5:2,5.

31. Способ по п.23, в котором для образования одной или более моноламеллярных везикул на стадии (f) применяют обработку ультразвуком, микрофлюидное смешивание, гомогенизацию или их комбинацию.

32. Способ по п.23, дополнительно включающий стерилизацию одной или более моноламеллярных везикул, полученных на стадии (f).

33. Способ по п.23, дополнительно включающий лиофилизацию одной или более моноламеллярных везикул, полученных на стадии (f).

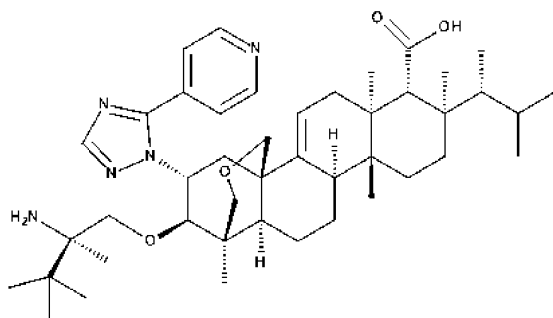
34. Способ по п.23, в котором средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет менее чем 150 нм.

35. Способ по п.34, в котором средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет менее чем 100 нм.

36. Способ по п.35, в котором средний размер частиц одной или более моноламеллярных везикул составляет от 70 до 80 нм.

37. Инъецируемая композиция, обладающая противогрибковой активностью, содержащая водную фазу и

одну или более моноламеллярных везикул, каждая из которых содержит фосфолипид и холестерин и в каждой из которых инкапсулировано соединение формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль или гидрат



(IIa)

которое представляет собой (1S,4aR,6aS,7R,8R,10aR,10bR,12aR,14R,15R)-15-[[[(2R)-2-амино-2,3,3-триметилбутил]окси]-8-[(1R)-1,2-диметилпропил]-14-[5-(4-пиридинил)-1H-1,2,4-триазол-1-ил]-1,6,6a,7,8,9,10,10a,10b,11,12,12a-додекагидро-1,6a,8,10a-тетраметил-4H-1,4a-пропано-2H-фенантро[1,2-c]пиран-7-карбоновую кислоту,

где одна или более моноламеллярных везикул гидратированы в водной фазе.

38. Инъецируемая композиция по п.37, в которой в одной или более моноламеллярных везикулах инкапсулировано соединение формулы (IIa).

39. Инъецируемая композиция по п.37, в которой в одной или более моноламеллярных везикулах инкапсулирована фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IIa).

40. Инъецируемая композиция по п.37, в которой в одной или более моноламеллярных везикулах инкапсулирована цитратная соль соединения формулы (IIa).

41. Способ лечения грибковой инфекции у нуждающегося в этом субъекта, где указанный способ включает внутривенное введение инъецируемой композиции по п.37.

42. Способ по п.41, в котором грибковая инфекция вызвана *Candida spp.*

43. Способ по п.41, в котором грибковая инфекция представляет собой кандидемию.

44. Способ по п.41, в котором грибковая инфекция вызвана *Aspergillus spp.*

45. Способ по п.41, в котором грибковая инфекция представляет собой инвазивный аспергиллез.

