

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046707**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента 2024.04.12	(51) Int. Cl. <i>A61K 39/00</i> (2006.01) <i>A61K 39/02</i> (2006.01) <i>A61K 39/39</i> (2006.01) <i>A61K 9/19</i> (2006.01) <i>A61K 47/06</i> (2006.01) <i>A61K 47/10</i> (2006.01) <i>A61K 47/14</i> (2006.01) <i>A61K 47/22</i> (2006.01) <i>A61K 47/26</i> (2006.01)
(21) Номер заявки 202191786	
(22) Дата подачи заявки 2019.12.25	

(54) **ВАКЦИННЫЙ АДЬЮВАНТ**

(31) 2018-242614	(56) WO-A1-2017061532
(32) 2018.12.26	JP-A-2001151699
(33) JP	US-A1-20030215497
(43) 2021.11.03	WO-A1-2012124631
(86) PCT/JP2019/050947	WO-A1-2018181420
(87) WO 2020/138217 2020.07.02	WO-A1-2020022272
(71)(73) Заявитель и патентовладелец: СУМИТОМО ФАРМА КО., ЛТД. (JP)	
(72) Изобретатель: Онита Маико (JP)	
(74) Представитель: Фелицына С.Б. (RU)	

(57) В изобретении предложен состав вакцинного адьюванта, который обладает отличной стабильностью при хранении и иммуностимулирующей активностью. Данный состав включает: i) (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан]-3-ил]амино}-6-метилпиримидин-5-ил)метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаенамид ("соединение А") или его фармацевтически приемлемую соль; ii) сквалан; iii) антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата, неорганических солей аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты; и iv) эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, при условии, что маннит исключен. Предлагаемый состав может находиться в лиофилизированном состоянии, или в восстановленном состоянии, в котором он представляет эмульсионную композицию. Также предложены вакцина и набор, содержащие состав вакцинного адьюванта по изобретению.

B1**046707****046707****B1**

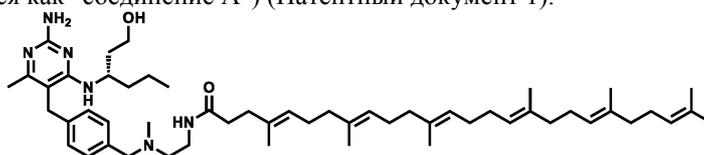
Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение касается эмульсионной композиции соединения, которое может быть использовано в качестве вакцинного адъюванта, и лиофилизированного состава на основе такой композиции.

Уровень техники

Субъединичные вакцины, в которых в качестве антигена используется часть компонентов патогена, могут быть получены такими методами, как химический синтез и технология генетической рекомбинации, причем они обладают большим числом преимуществ, чем вакцины, в которых используется сам патоген, с точки зрения их безопасности и процессов получения. При этом субъединичные вакцины обычно обладают меньшей иммуностимулирующей активностью, чем живые вакцины или инактивированные вакцины, в которых используется сам патоген. В связи с этим изучались профилактические или терапевтические способы применения адъювантов в комбинации с вакцинным антигеном для усиления иммуногенности эпитопа и усиления иммуностимулирующей активности вакцины.

Недавно появились сообщения об адъювантах, обладающих активностью агонистов TLR7, включая (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан]-3-ил]амино}-6-метилпиримидин-5-ил)метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаенамид (в дальнейшем именуется как "соединение А") (Патентный документ 1).



Соединение А обладает хорошим действием как вакцинный адъювант, но его нужно заключить в фармацевтическую форму, подобную эмульсии, для введения млекопитающим в качестве вакцинного адъюванта. В целом, известно, что антиоксиданты, являющиеся производными аскорбата, применяются для улучшения стабильности эмульсионных составов при хранении. Однако не было известно, что антиоксиданты, являющиеся производными аскорбата, могут стабилизировать распределение частиц по размерам.

Патентная литература

Патентный документ 1: WO 2017/061532.

Сущность изобретения

Задача, решаемая изобретением

В настоящем изобретении предложена композиция, которая может быть использована в качестве вакцинного адъюванта, с хорошей стабильностью при хранении и иммуностимулирующей активностью. Средства для решения задачи

Соединение А содержит в своей молекуле 6 ненасыщенных связей, происходящих из структур типа сквалена. При исследовании составов на основе соединения А стало ясно, что когда соединение А входит в состав обычных лиофилизированных препаратов в виде эмульсий, в которых в качестве масляного ингредиента используется сквален, то происходит окисление внутримолекулярных ненасыщенных связей соединения А, что приводит к снижению содержания соединения А. Автор изобретения провел обширные исследования, чтобы найти подходящий фармацевтический состав, включающий вакцинный адъювант, с высокой стабильностью при хранении, и обнаружил, что устойчивость соединения А к окислению улучшается при использовании сквалена в качестве масляного ингредиента при получении эмульсионной композиции, содержащей соединение А. Также оказалось, что добавление антиоксиданта на основе производных аскорбата позволяет получать фармацевтические составы с хорошей стабильностью при хранении, в частности, не только с устойчивостью к окислению самого соединения А, но также со стабильным распределением частиц по размерам, и таким образом было сделано настоящее изобретение.

В частности, сущность настоящего изобретения сводится к следующему.

Пункт 1. Лиофилизированный состав эмульсии для использования в качестве вакцинного адъюванта, включающий:

- i) (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан]-3-ил]амино}-6-метилпиримидин-5-ил)метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаенамид ("соединение А") или его фармацевтически приемлемую соль;
- ii) сквалан;
- iii) антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата, неорганических солей аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты; и
- iv) эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, при условии, что маннит исключен.

Пункт 2. Состав по п. 1, дополнительно включающий:

- v) гидрофильное поверхностно-активное вещество и
- vi) липофильное поверхностно-активное вещество.

Пункт 3. Состав по п.1 или 2, в котором эмульсия представляет собой эмульсию типа масло-в-воде.

Пункт 4. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло, или полиоксиэтилен-полиоксипропиленгликоль.

Пункт 5. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 60, Полисорбат 65, Полисорбат 80, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 10, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 20, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 40, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 50, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60, полиоксиэтилен(42)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(54)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(105)-полиоксипропилен(5)гликоль, полиоксиэтилен(124)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)гликоль, полиоксиэтилен(196)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(200)-полиоксипропилен(70)гликоль.

Пункт 6. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 80, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60 или полиоксиэтилен(160)полиоксипропилен(30)гликоль.

Пункт 7. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40 или Полисорбат 80.

Пункт 8. Состав по любому из пп.2-6, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана и жирной кислоты, сложный эфир глицерина и жирной кислоты, сложный эфир сахарозы и жирной кислоты, или сложный эфир пропиленгликоля и жирной кислоты.

Пункт 9. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-монолаурат, сорбитан-монопальмитат, сорбитан-моностеарат, сорбитан-тристеарат, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат, сорбитан-триолеат, триглицерид со средней длиной цепи, сложный эфир глицерина с жирной кислотой, глицерил-моностеарат, глицерил-мономиристат, глицерил-моноолеат, глицерил-триизооктанат, сложный эфир сахарозы с жирной кислотой, сахарозостеарат, сахарозопальмитат, сложный эфир пропиленгликоля с жирной кислотой, пропиленгликоль-моностеарат.

Пункт 10. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат или сорбитан-триолеат.

Пункт 11. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сорбитан-триолеат.

Пункт 12. Состав по любому из пп.1-11, дополнительно включающий антиоксидант В, выбранный из группы, состоящей из токоферола, токоферола ацетата и бутилгидроксианизола.

Пункт 13. Состав по п.12, где антиоксидант В представляет собой α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол, токоферола ацетат или бутилгидроксианизол.

Пункт 14. Состав по п.12, в котором антиоксидант В представляет собой токоферол, выбранный из группы, состоящей из α -токоферола, β -токоферола, γ -токоферола и δ -токоферола.

Пункт 15. Состав по п.12, в котором антиоксидант В представляет собой α -токоферол.

Пункт 16. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой L-аскорбиновый эфир стеарата, аскорбилпальмитат, аскорбат калия, аскорбат натрия, или аскорбат кальция.

Пункт 17. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой аскорбилпальмитат, аскорбат калия, аскорбат натрия или аскорбиновую кислоту.

Пункт 18. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой аскорбат натрия или аскорбат калия.

Пункт 19. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой невосстанавливающий сахар либо сахароспирт.

Пункт 20. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу, трегалозу, сорбит, эритрит, ксилит, мальтит или лактитол.

Пункт 21. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу, трегалозу, сорбит или ксилит.

Пункт 22. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу или трегалозу.

Пункт 23. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 50-500 раз больше массы соединения А.

Пункт 24. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 100-400 раз больше массы соединения А.

Пункт 25. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 200-

300 раз больше массы соединения А.

Пункт 26. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 0,5-250 раз больше массы соединения А.

Пункт 27. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 5-100 раз больше массы соединения А.

Пункт 28. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 10-50 раз больше массы соединения А.

Пункт 29. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 0,5-250 раз больше массы соединения А.

Пункт 30. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 5-100 раз больше массы соединения А.

Пункт 31. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 10-50 раз больше массы соединения А.

Пункт 32. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 0,5-500 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.

Пункт 33. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 2,5-250 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.

Пункт 34. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 5-100 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.

Пункт 35. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 50-1000 раз больше массы соединения А.

Пункт 36. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 100-750 раз больше массы соединения А.

Пункт 37. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 200-625 раз больше массы соединения А.

Пункт 38. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 5-250 раз больше массы соединения А.

Пункт 39. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 12,5-125 раз больше массы соединения А.

Пункт 40. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 25-50 раз больше массы соединения А.

Пункт 41. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0001-0,65 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.

Пункт 42. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0002-0,35 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.

Пункт 43. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0005-0,065 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.

Пункт 44. Состав по любому из пп.1-43, в котором значения D_{90} размера частиц в эмульсии сразу после получения и в эмульсии, восстановленной после 6-месячного хранения при 25°C в виде лиофилизированного состава, составляют 1000 нм или меньше.

Пункт 45. Состав по любому из пп.1-44, в котором повышение содержания примеси, которая выявляется при 1,02-кратном времени элюирования соединения А при спектроскопическом измерении при длине волны 220 нм методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фенилгексилевой колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XP, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой, по процентам площади после 6-месячного хранения при 5°C в виде лиофилизированного состава составляет 5,0% или меньше.

Пункт 46. Состав по любому из пп.1-44, в котором повышение содержания примеси, которая выявляется при 1,02-кратном времени элюирования соединения А при спектроскопическом измерении при длине волны 220 нм методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фенилгексилевой колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XP, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой по процентам площади после 6-месячного хранения при 5°C в виде лиофилизированного состава составляет 1,0% или меньше.

Пункт 47. Состав по любому из пп.1-46, в котором значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент начала хранения в лиофилизированном виде составляет 1000 нм или менее.

Пункт 48. Способ получения лиофилизированного состава эмульсии для использования в качестве вакцинного адьюванта, согласно любому из пп.1-47, включающий

растворение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли в масляном ингредиенте, содержащем сквалан, антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата, неорганических солей аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты, с получением композиции А;

растворение водных ингредиентов, содержащих эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, в стерильной воде для инъекций с получением композиции В;

эмульгирование смеси композиций А и В, чтобы они диспергировали для получения эмульсии; и лиофилизация эмульсии с получением лиофилизированного состава.

Пункт 49. Способ по п.48, где значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент начала хранения в лиофилизированном виде составляет 1000 нм или менее.

Пункт 50. Способ по любому из пп.48 или 49, далее включающий хранение лиофилизированного состава и восстановление эмульсии из лиофилизированного состава, где значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент восстановления эмульсии составляет 1000 нм или менее.

Пункт 51. Эмульсионная композиция, которая представляет собой состав по любому из пп.1-47 после восстановления.

Пункт 52. Вакцина, включающая состав по любому из пп.1-47 и антиген.

Пункт 53. Вакцина по п.52, в которой антиген получен из патогена.

Пункт 54. Набор, включающий состав по любому из пп.1-47 и антиген.

Технический эффект по изобретению

Настоящее изобретение может усиливать антиген-специфичные иммунные реакции, обеспечивая получение состава вакцинного адьюванта с высокой стабильностью при хранении.

Раскрытие вариантов осуществления изобретения

Состав по настоящему изобретению представляет собой лиофилизированный состав эмульсии, включающий соединение А, сквалан, антиоксидант А типа аскорбата и эксципиент А. Настоящее изобретение включает составы эмульсий до лиофилизации и составы эмульсий после восстановления лиофилизированной формы.

Соединение А, входящее в качестве активного ингредиента в состав по настоящему изобретению, может быть в виде свободной формы или её фармацевтически приемлемой соли с кислотой или соли с основанием. Примеры солей с кислотами (солей присоединения кислоты) включают соли с такими неорганическими или органическими кислотами, как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, трифторуксусная кислота, лимонная кислота и малеиновая кислота. Примеры солей с основаниями (солей присоединения оснований) включают соли щелочных металлов типа солей натрия и солей калия, соли щелочноземельных металлов типа солей кальция и соли аммония. Соединение А или его фармацевтически приемлемые соли в настоящем изобретении также могут существовать в виде гидрата или сольвата, и эти формы тоже охвачены соединением А или его фармацевтически приемлемыми солями в настоящем изобретении. Подробности и способы получения этих форм описаны в Патентном документе 1, и соединение А или его фармацевтически приемлемые соли могут быть получены, к примеру, способами, описанными в Патентном документе 1.

В составе по настоящему изобретению содержание соединения А описывается в пересчете на содержание свободной формы соединения А. Когда соединение А применяется в виде его фармацевтически приемлемой соли, содержание соединения А преобразуется путем добавления веса соли к весу соединения А.

Термин "эмульсия" в настоящем изобретении означает эмульсию типа масло-в-воде или эмульсию типа вода-в-масле, и предпочтительно он означает эмульсию типа масло-в-воде. Соотношение (по массе) масляной композиции к водному раствору предпочтительно составляет от 1:99 до 15:85, более предпочтительно от 2:98 до 10:90, еще более предпочтительно от 3:97 до 9:91 и еще более предпочтительно от 4:96 до 7:93. Соединение А находится в растворенном состоянии в масляной композиции в составе эмульсии по настоящему изобретению.

Термин "лиофилизированный состав" в настоящем изобретении означает состав, полученный путем удаления воды из состава эмульсии по настоящему изобретению в условиях лиофилизации. При восстановлении лиофилизированного состава стерильной водой для инъекций, по массе, превышающей в 2-20 раз массу лиофилизированного состава, можно получить состав эмульсии.

Примеры гидрофильных поверхностно-активных веществ в настоящем изобретении включают сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана с жирными кислотами (напр., Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 60, Полисорбат 65, Полисорбат 80 и т.д.); полиоксиэтиленовые гидрогенизированные касторовые масла (напр., полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 10, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 20, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 40, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 50, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60 и т.д.); и полиоксиэтилен-полиоксипропиленгликоли (напр., полиоксиэтилен(42)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(54)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(105)-полиоксипропилен(5)гликоль, полиоксиэтилен(124)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)гликоль, полиоксиэтилен(196)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(200)-полиоксипропилен(70)гликоль и т.д.); а предпочтительным гидрофильным ПАВ является Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 80, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60 или полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)гликоль, более предпочтительно Поли-

сорбат 20, Полисорбат 40 или Полисорбат 80, особенно предпочтительно Полисорбат 80.

Содержание гидрофильного ПАВ в композициях по настоящему изобретению в 0,5-250 раз, предпочтительно в 5-100 раз, более предпочтительно в 10-50 раз больше массы соединения А.

Примеры липофильных поверхностно-активных веществ в настоящем изобретении включают сложные эфиры сорбитана и жирных кислот (например, сложные эфиры сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-монолаурат, сорбитан-монопальмитат, сорбитан-моностеарат, сорбитан-тристеарат, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат, сорбитан-триолеат, триглицериды со средней длиной цепи и т.п.); сложные эфиры глицерина и жирных кислот (например, сложный эфир глицерина и жирной кислоты, моностеарат глицерина, мономиристит глицерина, моноолеат глицерина, триизооктаноат глицерина и т.п.); сложные эфиры сахарозы и жирных кислот (например, сложный эфир сахарозы и жирной кислоты, стеарат сахарозы, пальмитат сахарозы и т.п.); и сложные эфиры пропиленгликоля и жирных кислот (например, сложный эфир пропиленгликоля и жирной кислоты, моностеарат пропиленгликоля и т.п.), а предпочтительными липофильными ПАВ являются сложные эфиры сорбитана с жирными кислотами, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат или сорбитан-триолеат, более предпочтительно сорбитан-триолеат.

Количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в составах по настоящему изобретению в 0,5-250 раз, предпочтительно в 5-100 раз, более предпочтительно в 10-50 раз больше массы соединения А.

В качестве масляного ингредиента в композициях по настоящему изобретению используется сквалан. При исследовании фармацевтических составов устойчивость к окислению соединения А повышалась при использовании сквалана вместо сквалена, который обычно применяется в качестве масляного ингредиента в составе эмульсий. Следовательно, сквалан предпочтителен в качестве масляного ингредиента в описанных здесь фармацевтических составах. Вносимое в смесь количество сквалана в 50-500 раз, предпочтительно в 100-400 раз, более предпочтительно в 200-300 раз больше веса соединения А.

Примеры используемого здесь антиоксиданта А включают сложные эфиры аскорбата (например, L-аскорбиновый эфир стеарата, аскорбилпальмитат и т.п.); неорганические соли аскорбиновой кислоты (например, аскорбат калия, аскорбат натрия, аскорбат кальция и т.п.); и аскорбиновую кислоту, а предпочтительным антиоксидантом А является аскорбилпальмитат, аскорбат калия, аскорбат натрия или аскорбиновая кислота, более предпочтительно аскорбат натрия или аскорбат калия.

Содержание антиоксиданта А в составе по настоящему изобретению определяется в пересчете на массу аскорбата натрия. В частности, содержание, полученное при преобразовании массы аскорбиновой кислоты или производного аскорбата, антиоксиданта А, в массу аскорбата натрия, в 0,5-500 раз, предпочтительно в 2,5-250 раз, более предпочтительно в 5-100 раз больше массы соединения А.

Примеры используемого здесь эксципиента А включают невосстанавливающие сахара и сахароспирты, при условии, что маннит исключен. Предпочтительно это невосстанавливающие сахара (например, сахароза, трегалоза) и сахароспирты (например, сорбит, эритрит, ксилит, мальтит и лактитол), более предпочтительно сахароза, трегалоза, сорбит или ксилит, еще более предпочтительно сахароза или трегалоза и особенно предпочтительно сахароза.

Содержание эксципиента А в композициях по настоящему изобретению в 50-1000 раз, предпочтительно в 100-750 раз, более предпочтительно в 200-625 раз больше массы соединения А.

Примеры используемого здесь антиоксиданта В включают токоферол (например, α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол и т.п.); токоферол ацетат; и

бутилгидроксианизол, а предпочтительным антиоксидантом В является α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол или δ -токоферол, более предпочтительно α -токоферол.

Содержание антиоксиданта В в композициях по настоящему изобретению в 5-250 раз, предпочтительно в 12,5-125 раз, более предпочтительно в 20-50 раз, еще более предпочтительно в 25-50 раз больше массы соединения А.

Лиофилизированные составы по настоящему изобретению могут быть получены путем заполнения эмульсией флакона с последующей лиофилизацией в лиофилизаторе при обычных условиях получения. При этом условия получения включают, без ограничения, условия, при которых эмульсия замораживается примерно при -40°C в лиофилизаторе с последующим сбросом давления внутри лиофилизатора под вакуумом при температуре внутри до -20°C и сушится примерно 10-80 ч; после чего температура внутри повышается до 25°C и эмульсию дополнительно высушивают в течение примерно 10-30 ч.

В одном воплощении состав по настоящему изобретению включает лиофилизированный состав эмульсии, включающий:

i) (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан)-3-ил]амино]-6-метилпиримидин-5-ил]метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаен-амид (в дальнейшем именуется как "соединение А") или его фармацевтически приемлемую соль;

ii) сквалан;

iii) антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата (например, L-аскорбинового эфира стеарата, аскорбилпальмитата и т.п.), неорганических солей аскорбиновой кислоты (например, аскорбата калия, аскорбата натрия, аскорбата кальция и т.п.) и аскорбиновой кислоты; и

iv) эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, при условии, что маннит исключен;

v) гидрофильное поверхностно-активное вещество и

vi) липофильное поверхностно-активное вещество.

В другом воплощении композиция по настоящему изобретению включает лиофилизированный состав эмульсии, включающий:

i) (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан]-3-ил]амино}-6-метилпиримидин-5-ил)метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаен-амид (в дальнейшем именуется как "соединение А") или его фармацевтически приемлемую соль;

ii) сквалан;

iii) антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата (например, L-аскорбинового эфира стеарата, аскорбилпальмитата и т.п.), неорганических солей аскорбиновой кислоты (например, аскорбата калия, аскорбата натрия, аскорбата кальция и т.п.) и аскорбиновой кислоты; и

iv) эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, при условии, что маннит исключен;

v) гидрофильное ПАВ типа сложного эфира полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты (например, Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 60, Полисорбат 65, Полисорбат 80 и т.д.); полиоксиэтиленового гидрогенизированного касторового масла (например, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 10, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 20, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 40, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 50, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60 и т.д.); или полиоксиэтилен-полиоксипропиленгликоля (например, полиоксиэтилен(42)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(54)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(105)-полиоксипропилен(5)гликоль, полиоксиэтилен(124)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)-гликоль, полиоксиэтилен(196)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(200)-полиоксипропилен(70)гликоль и т.д.);

vi) липофильное ПАВ типа сложного эфира сорбитана и жирной кислоты (например, сложный эфир сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-монолаурат, сорбитан-монопальмитат, сорбитан-моностеарат, сорбитан-тристеарат, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат, сорбитан-триолеат, триглицерид со средней длиной цепи и т.п.); сложного эфира глицерина и жирной кислоты (например, сложный эфир глицерина с жирной кислотой, глицерил-моностеарат, глицерил-мономиристанат, глицерил-моноолеат, глицерил-триизооктаноат и т.п.); сложного эфира сахарозы и жирной кислоты (например, сложный эфир сахарозы с жирной кислотой, сахарозостеарат, сахарозопальмитат и т.п.); или сложного эфира пропиленгликоля и жирной кислоты (например, сложный эфир пропиленгликоля с жирной кислотой, пропиленгликоль-моностеарат и т.п.); и

iii') антиоксидант В, выбранный из группы, состоящей из токоферола (например, α -токоферола, β -токоферола, γ -токоферола, δ -токоферола и т.п.), токоферола ацетата и бутилгидроксианизола.

В еще одном воплощении состав по настоящему изобретению включают лиофилизированный состав, который не содержит антиоксиданта А согласно iii), а содержит токоферол согласно iii') (например, α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол и т.д.) в качестве антиоксиданта. Токоферол предпочтительно представляет собой α -токоферол.

Содержание токоферола в композициях в 5-250 раз, предпочтительно в 12,5-125 раз, более предпочтительно в 20-50 раз, еще более предпочтительно в 25-50 раз больше массы соединения А.

Состав может дополнительно включать дополнительный антиоксидант типа тиосульфата натрия или бутилгидроксианизола.

Масса соединения А в композициях по настоящему изобретению в 0,0001-0,65 раз, предпочтительно в 0,0002-0,35 раз, более предпочтительно в 0,0005-0,065 раз меньше массы, получаемой при исключении соединения А из лиофилизированного состава.

Что касается величины D_{90} размера частиц масляных капель в составе по настоящему изобретению, то значение D_{90} размера частиц эмульсии при получении составляет 1000 нм или меньше, предпочтительно 300 нм или меньше. Значение D_{90} размера частиц масляных капель в эмульсии, восстановленной после хранения в виде лиофилизированного состава, предпочтительно составляет 1000 нм или меньше для значения D_{90} размера частиц масляных капель в эмульсии, восстановленной после 6-месячного хранения при 5 или 25°C.

Величина D_{90} размера частиц масляных капель в составе по настоящему изобретению является одной из репрезентативных величин, показывающих распределение частиц масляных капель, содержащихся в эмульсии, по размерам, и означает размер 90% частиц по интенсивности светорассеяния. Значение D_{90} размера частиц обычно рассчитывают по измерениям с помощью анализатора типа анализатора размера частиц по динамическому светорассеянию, анализатора размера частиц по дифракции лазерного излучения и анализатора размера частиц методом обработки изображений. В настоящем изобретении величина D_{90} размера частиц означает значение, измеренное с помощью анализатора размера частиц по

динамическому светорассеянию: Zetasizer Nano ZS (Malvern).

В композициях по настоящему изобретению примесь UK-1.02 является одной из типичных примесей, выявляемых при определении родственных веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Это означает примесь, которая выявляется при 1,02-кратном времени элюирования соединения А при спектроскопическом измерении при длине волны 220 нм методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фенилгексиловой колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XP, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой.

Подробности условий измерения следующие.

Подвижная фаза А: 0,1% водный раствор трифторуксусной кислоты.

Подвижная фаза В: смесь ацетонитрила с метанолом (8:2), содержащая 0,06% трифторуксусной кислоты.

Условия подачи:

Время (мин)	Подвижная фаза А: фаза В
от 0,0 до 0,5	6:4
от 0,5 до 50,5	от 6:4 до 1:9
от 50,5 до 65,0	1:9
от 65,0 до 65,1	от 1:9 до 6:4
75,0	6:4

Скорость потока: 0,5 мл/мин.

Температура колонки: определенная температура около 40°C.

В плане стабильности при хранении состава по настоящему изобретению: содержание примеси UK-1.02 по процентам площади повышается на 5,0% или меньше, предпочтительно на 1,0% или меньше от значения в начале хранения после 6-месячного хранения лиофилизированного состава по настоящему изобретению при 5°C. Значения площади в процентах сравниваются по фактически измеренным значениям.

Состав по настоящему изобретению хранится в лиофилизированном виде после эмульгирования получаемой эмульсии типа масло-в-воде с последующим асептическим фильтрованием через стерильный фильтр и лиофилизацией. При асептическом фильтровании предпочтительно значение D90 размера частиц в эмульсии составляет 1000 нм или меньше для предотвращения закупоривания и эффективной фильтрации.

Состав по настоящему изобретению может содержать и другие добавки, при условии, что размер частиц эмульсии не меняется в промежутке между моментами до и после восстановления. Состав можно вводить путем смешивания с составом, содержащим вакцинный антиген, при условии, что размер частиц эмульсии не меняется в промежутке между моментами до и после восстановления. Способ и соотношение смешивания состава по настоящему изобретению и вакцинного антигена не ограничивается; например, восстановленный состав эмульсии можно смешивать с равным объемом состава, содержащего вакцинный антиген, путем переворачивания флакона.

Вакцинный антиген, вводимый в смеси с составом по настоящему изобретению, включает, без ограничения, к примеру, антигенный белок, антигенный пептид (частичный пептид), полученный из антигенного белка, и их комплексы с носителем. Примеры вакцинных антигенов включают: 1) белки опухолевых антигенов или пептиды опухолевых антигенов для иммунотерапии рака и 2) активные ингредиенты вакцин для предотвращения инфекций. Носитель означает вещество, которое химически и/или физически соединяется с антигенным белком или с антигенным пептидом и включает, к примеру, белки и липиды.

Состав по настоящему изобретению может быть представлен в виде набора, включающего лиофилизированный состав, содержащий соединение А и вакцинный антиген.

Состав по настоящему изобретению может быть восстановлен с использованием от 2- до 20-кратного количества стерильной воды для инъекций по весу лиофилизированного состава при введении и может вводиться в смеси с составом, содержащим вакцинный антиген. Дозировка состава по настоящему изобретению при каждом введении составляет от 1 нг до 250 мг, предпочтительно от 1 нг до 50 мг в пересчете на вес соединения А. Частота введения варьируется в зависимости от типа вводимого вакцинного антигена или возраста субъекта, которому вводят препарат, но может соответствовать однократному введению либо может включать одно или несколько дополнительных введений.

В соответствии с настоящим изобретением стабильность при хранении представлена в тест-примерах, приведенных ниже.

Примеры

Настоящее изобретение раскрывается на примерах, контрольных примерах, сравнительных примерах и тест-примерах, приведенных ниже, но не ограничивается этим.

В качестве сквалана использовали сквалан фирмы Wako Pure Chemical Corporation, фирмы Kishimoto Special Liver Oil Co., Ltd., или фирмы Maruha Nichiro Corporation; в качестве сквалена использовали

сквален фирмы Wako Pure Chemical Corporation, фирмы Kishimoto Special Liver Oil Co., Ltd., или фирмы Maruha Nichiro Corporation; в качестве аскорбата натрия использовали аскорбат натрия фирмы Wako Pure Chemical Corporation или L-аскорбат натрия фирмы Kyowa Pharma Chemical Co., Ltd.; в качестве α -токоферола использовали α -токоферол фирмы Mitsubishi Chemical Foods или α -токоферол all-rac EMPROVE™ Essential Ph Eur, BP, USP, E 307 фирмы Merck; в качестве сорбитана-триолеата использовали Span 85 фирмы Sigma-Aldrich, Inc., RHEODOL SP-O30V фирмы Kao Corporation или Span 85 фирмы CRODA; в качестве полисорбата 80 использовали PS80 (GS) фирмы NOF Corporation, Polysorbate 80 (HX2) фирмы NOF Corporation, Tween 80 фирмы Merck или Tween 80 HP-LQ-(HM) фирмы CRODA; в качестве сахарозы использовали сахарозу фирмы Nacalai Tesque или сахарозу с низким содержанием эндотоксинов, пригодную для применения в качестве наполнителя, EMPROVE™ Essential Ph Eur, BP, USP, E 307 фирмы Merck; в качестве стерильной воды для инъекций использовали дистиллированную воду Otsuka фирмы Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.; а также использовали аскорбилпальмитат, бутилгидроксианизол и тиосульфат натрия фирмы Wako Pure Chemical Corporation.

Получение лиофилизированных композиций

Примеры 1-16, Сравнительные примеры 1-3.

Соединение А растворяли в масляных ингредиентах (примеры 1-9 и 15: сквалан, сорбитан-триолеат и α -токоферол; примеры 10-13: сквалан и сорбитан-триолеат; пример 14: сквалан, сорбитан-триолеат, α -токоферол и аскорбилпальмитат; пример 16: сквалан, сорбитан-триолеат, α -токоферол и бутилгидроксианизол; сравнительные примеры 1-3: сквалан, сорбитан-триолеат и α -токоферол), получая композиции, приведенные в табл. 1-4. Водные ингредиенты (примеры 1-3, 14 и 16: сахароза и Полисорбат 80; примеры 4-13: сахароза, Полисорбат 80 и аскорбат натрия; пример 15: сахароза, Полисорбат 80 и тиосульфат натрия) растворяли в стерильной воде для инъекций, получая композиции, приведенные в табл. 1-4, а затем в них добавляли каждую из вышеприведенных масляных композиций. Смеси перемешивали и диспергировали для эмульгирования с помощью диспергирующего устройства для эмульгирования под высоким давлением. Смеси фильтровали через стерилизующий фильтр на 0,2 мкм, а затем разливали в стеклянные флаконы по 1 мл и проводили лиофилизацию. Каждый флакон заполняли газообразным азотом до обычного давления, а затем флаконы закрывали резиновыми пробками, получая лиофилизированные композиции из примеров 1-16 и сравнительных примеров 1-3.

Таблица 1

Ингредиент	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6	Пример 7
Соединение А	1	1	1	1	1	1	1
Сквалан	225	200	237,5	225	225	225	225
α -Токоферол	25	50	12,5	25	25	25	25
Аскорбат натрия	0	0	0	2,5	5	10	20
Аскорбилпальмитат	0	0	0	0	0	0	0
Сорбитан-триолеат	25	25	25	25	25	25	25
Полисорбат 80	25	25	25	25	25	25	25
Сахароза	500	500	500	500	500	500	500

Примечание. Каждое значение означает массовую долю данного ингредиента на 1 массовую долю соединения А

Таблица 2

Ингредиент	Пример 8	Пример 9	Пример 10	Пример 11	Пример 12	Пример 13	Пример 14
Соединение А	1	1	1	1	1	1	1
Сквалан	225	225	250	250	250	250	225
α -Токоферол	25	25	0	0	0	0	25
Аскорбат натрия	40	60	10	20	40	60	0
Аскорбилпальмитат	0	0	0	0	0	0	0,5
Сорбитан-триолеат	25	25	25	25	25	25	25
Полисорбат 80	25	25	25	25	25	25	25
Сахароза	500	500	500	500	500	500	500

Примечание. Каждое значение означает массовую долю данного ингредиента на 1 массовую долю соединения А

Таблица 3

Ингредиент	Пример 15	Пример 16
Соединение А	1	1
Сквалан	225	225
α -Токоферол	25	25
Аскорбат натрия	0	0
Тиосульфат натрия	5	0
Бутилгидроксианизол	0	0,25
Сорбитан-триолеат	25	25
Полисорбат 80	25	25
Сахароза	500	500

Примечание. Каждое значение означает массовую долю данного ингредиента на 1 массовую долю соединения А

Таблица 4

Ингредиент	Сравнит. пример 1	Сравнит. пример 2	Сравнит. пример 3
Соединение А	1	1	1
Сквален	237,5	225	200
Сквалан	0	0	0
α -Токоферол	12,5	25	50
Аскорбат натрия	0	0	0
Сорбитан-триолеат	25	25	25
Полисорбат 80	25	25	25
Сахароза	500	500	500

Примечание. Каждое значение означает массовую долю данного ингредиента на 1 массовую долю соединения А

Тест-пример 1. Измерение размера частиц в процессе получения

В процессе получения лиофилизированных композиций следующим образом измеряли распределение частиц масляных капель, содержащихся в эмульсии после эмульгирования и перед лиофилизацией, по размерам.

Эмульсию разбавляли в 10 раз стерильной водой для инъекций и измеряли размер 90% частиц (D_{90}) по интенсивности светорассеяния на анализаторе размера частиц по динамическому светорассеянию (Zetasizer Nano ZS). Значения D_{90} (нм) для примеров 1-16 и сравнительных примеров 1-3 представлены в табл. 5.

Таблица 5

	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6	Пример 7	Пример 8
D_{90} (нм)	294	276	274	273	287	293	270	250
	Пример 9	Пример 10	Пример 11	Пример 12	Пример 13	Пример 14	Пример 15	Пример 16
D_{90} (нм)	259	280	288	279	266	289	290	295
	Сравнит. пример 1	Сравнит. пример 2	Сравнит. пример 3					
D_{90} (нм)	280	309	273					

Тест-пример 2. Оценка стабильности (1)

Измеряли распределение частиц полученных лиофилизированных композиций по размерам до и после 6-месячного хранения в инкубаторе с постоянной температурой при 5 и 25°C следующим образом.

Каждый флакон с лиофилизированными композициями, полученными в примерах 1-16 и сравнительных примерах 1-3, восстанавливали добавлением 1 мл стерильной воды для инъекций, а после восстановления отбирали микропипеткой 100 мкл раствора препарата. Пробы растворов препарата смешивали с 900 мкл стерильной воды для инъекций, а затем измеряли размер 90% частиц (D_{90}) по интенсивности светорассеяния на анализаторе размера частиц по динамическому светорассеянию (Zetasizer Nano ZS). Значения D_{90} (нм) из примеров 1-16 и сравнительных примеров 1-3 до и после хранения представлены в табл. 6.

Таблица 6

	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6	Пример 7	Пример 8
Исходно	655	915	738	594	586	624	594	565
5°C, 6 мес.	598	618	553	575	590	792	558	529
25°C, 6 мес.	3300	1810	4650	772	599	946	606	502
	Пример 9	Пример 10	Пример 11	Пример 12	Пример 13	Пример 14	Пример 15	Пример 16
Исходно	564	662	621	562	554	665	698	694
5°C, 6 мес.	600	610	601	508	544	508	585	576
25°C, 6 мес.	937	594	551	488	477	505	837	1150
	Сравнит. пример 1	Сравнит. пример 2	Сравнит. пример 3					
Исходно	675	552	1020					
5°C, 6 мес.	579	631	625					
25°C, 6 мес.	5880	969	1040					

Согласно результатам испытаний, составы из примеров 4-14, содержащие в качестве антиоксиданта

аскорбаты, проявляли лишь небольшие изменения в распределении частиц по размерам после 6 месяцев хранения в инкубаторе с постоянной температурой при 5 и 25°C по сравнению с исходным значением, поэтому считается, что эти композиции обладают высокой стабильностью в отношении распределения частиц по размерам.

Тест-пример 3. Оценка стабильности (2)

Измеряли содержание примеси (т.е. процент площади Uk-1.02) в лиофилизированных композициях до и после 6-месячного хранения в инкубаторе с постоянной температурой при 5°C следующим образом.

Примесь детектировали спектроскопически методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии при длине волны 220 нм с фенил-гексилевой колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XR, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой.

Подробности условий измерения следующие.

Подвижная фаза А: 0,1% водный раствор трифторуксусной кислоты.

Подвижная фаза В: смесь ацетонитрила с метанолом (8:2), содержащая 0,06% трифторуксусной кислоты.

Условия элюирования:

Время (мин)	Подвижная фаза А:фаза В
от 0,0 до 0,5	6:4
от 0,5 до 50,5	от 6:4 до 1:9
от 50,5 до 65,0	1:9
от 65,0 до 65,1	от 1:9 до 6:4
75,0	6:4

Скорость подачи: 0,5 мл/мин.

Температура колонки: определенная температура около 40°C.

Значения площади (в %) пика примеси (Uk-1.02), выявляемого при 1,02-кратном времени элюирования соединения А, рассчитывали по следующему уравнению по измерениям площади пика и времени элюирования:

значение площади пика (%) Uk-1.02=площадь пика Uk-1.02/общая площадь пиков родственных веществ и соединения А×100.

Значения площади пиков (%) примеси Uk-1.02 в примерах 1-16 и сравнительных примерах 1-3 до и после хранения представлены в табл. 7.

Таблица 7

	Пример 1	Пример 2	Пример 3	Пример 4	Пример 5	Пример 6	Пример 7	Пример 8
Исходно	1,3	0,9	<0,1	0,9	0,8	0,9	0,8	<0,1
5°C, 6 мес.	2,4	2,4	4,6	1,0	0,9	0,9	0,8	0,6
	Пример 9	Пример 10	Пример 11	Пример 12	Пример 13	Пример 14	Пример 15	Пример 16
Исходно	0,6	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,7	1,7	1,4
5°C, 6 мес.	0,5	0,3	0,3	0,4	0,4	0,8	3,7	2,8
	Сравнит. пример 1	Сравнит. пример 2	Сравнит. пример 3					
Исходно	1,0	0,8	1,1					
5°C, 6 мес.	27,1	9,4	7,7					

Согласно результатам испытаний, композиции из примеров 4-14, содержащие в качестве антиоксиданта аскорбаты, проявляли низкие значения примеси (площадь пика Uk-1.02) после 6-месячного хранения в инкубаторе с постоянной температурой при 5°C, поэтому считается, что эти композиции обладают высокой стабильностью при хранении. При сравнении составов из примеров 1-3, содержащих сквалан в качестве масляного ингредиента, с составами из сравнительных примеров 1-3, содержащих сквалан в качестве масляного ингредиента, составы, содержащие сквалан в качестве масляного ингредиента, демонстрировали меньшие количества примеси (площадь пика Uk-1.02), чем другие составы, поэтому считается, что сквалан способствует устойчивости антиоксидантного действия соединения А, а составы, содержащие сквалан, считаются обладающими высокой стабильностью при хранении.

Промышленная применимость

В соответствии с этими примерами, контрольными примерами, сравнительными примерами и тест-примерами составы по настоящему изобретению обладают высокой стабильностью при хранении и могут быть использованы для композиций вакцинного адьюванта.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Лиофилизированный состав эмульсии для использования в качестве вакцинного адьюванта, включающий:

i) (4E,8E,12E,16E,20E)-N-{2-[4-[(2-амино-4-[(3S)-1-гидроксигексан]-3-ил]амино]-6-метилпиримидин-5-ил)метил]бензил}(метил)амино]этил}-4,8,12,17,21,25-гексаметилгексакоза-4,8,12,16,20,24-гексаен-амид ("соединение А") или его фармацевтически приемлемую соль;

ii) сквалан;

iii) антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата, неорганических солей аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты; и

iv) эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, при условии, что маннит исключен.

2. Состав по п.1, дополнительно включающий:

v) гидрофильное поверхностно-активное вещество и

vi) липофильное поверхностно-активное вещество.

3. Состав по п.1 или 2, в котором эмульсия представляет собой эмульсию типа масло-в-воде.

4. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир полиоксиэтиленсорбитана и жирной кислоты, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло, или полиоксиэтилен-полиоксипропиленгликоль.

5. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 60, Полисорбат 65, Полисорбат 80, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 10, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 20, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 40, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 50, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60, полиоксиэтилен(42)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(54)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(105)-полиоксипропилен(5)гликоль, полиоксиэтилен(124)-полиоксипропилен(39)гликоль, полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)гликоль, полиоксиэтилен(196)-полиоксипропилен(67)гликоль, полиоксиэтилен(200)-полиоксипропилен(70)гликоль.

6. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40, Полисорбат 80, полиоксиэтиленовое гидрогенизированное касторовое масло 60 или полиоксиэтилен(160)-полиоксипропилен(30)гликоль.

7. Состав по п.2 или 3, в котором гидрофильное поверхностно-активное вещество представляет собой Полисорбат 20, Полисорбат 40 или Полисорбат 80.

8. Состав по любому из пп.2-6, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана и жирной кислоты, сложный эфир глицерина и жирной кислоты, сложный эфир сахарозы и жирной кислоты или сложный эфир пропиленгликоля и жирной кислоты.

9. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-монолаурат, сорбитан-монопальмитат, сорбитан-моностеарат, сорбитан-тристеарат, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат, сорбитан-триолеат, триглицерид со средней длиной цепи, сложный эфир глицерина с жирной кислотой, глицерил-моностеарат, глицерил-мономиристанат, глицерил-моноолеат, глицерил-триизооктанат, сложный эфир сахарозы с жирной кислотой, сахарозостеарат, сахарозопальмитат, сложный эфир пропиленгликоля с жирной кислотой, пропиленгликоль-моностеарат.

10. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сложный эфир сорбитана с жирной кислотой, сорбитан-моноолеат, сорбитан-сесквиолеат или сорбитан-триолеат.

11. Состав по любому из пп.2-7, в котором липофильное поверхностно-активное вещество представляет собой сорбитан-триолеат.

12. Состав по любому из пп.1-11, дополнительно включающий антиоксидант В, выбранный из группы, состоящей из токоферола, токоферола ацетата и бутилгидроксианизола.

13. Состав по п.12, где антиоксидант В представляет собой α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол, токоферола ацетат или бутилгидроксианизол.

14. Состав по п.12, в котором антиоксидант В представляет собой токоферол, выбранный из группы, состоящей из α -токоферола, β -токоферола, γ -токоферола и δ -токоферола.

15. Состав по п.12, в котором антиоксидант В представляет собой α -токоферол.

16. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой L-аскорбиновый эфир стеарата, аскорбилпальмитат, аскорбат калия, аскорбат натрия, или аскорбат кальция.

17. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой аскорбилпальмитат, аскорбат калия, аскорбат натрия или аскорбиновую кислоту.

18. Состав по любому из пп.1-15, в котором антиоксидант А представляет собой аскорбат натрия или аскорбат калия.

19. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой невосстанавливающий сахар либо сахароспирт.
20. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу, трегалозу, сорбит, эритрит, ксилит, мальтит или лактитол.
21. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу, трегалозу, сорбит или ксилит.
22. Состав по любому из пп.1-18, в котором эксципиент А представляет собой сахарозу или трегалозу.
23. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 50-500 раз больше массы соединения А.
24. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 100-400 раз больше массы соединения А.
25. Состав по любому из пп.1-22, в котором количество вносимого в смесь сквалана в 200-300 раз больше массы соединения А.
26. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 0,5-250 раз больше массы соединения А.
27. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 5-100 раз больше массы соединения А.
28. Состав по любому из пп.2-25, в котором количество вносимого в смесь гидрофильного ПАВ в 10-50 раз больше массы соединения А.
29. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 0,5-250 раз больше массы соединения А.
30. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 5-100 раз больше массы соединения А.
31. Состав по любому из пп.2-28, в котором количество вносимого в смесь липофильного ПАВ в 10-50 раз больше массы соединения А.
32. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 0,5-500 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.
33. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 2,5-250 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.
34. Состав по любому из пп.1-31, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта А в 5-100 раз больше массы соединения А в пересчете на массу аскорбата натрия.
35. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 50-1000 раз больше массы соединения А.
36. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 100-750 раз больше массы соединения А.
37. Состав по любому из пп.1-34, в котором количество вносимого в смесь эксципиента А в 200-625 раз больше массы соединения А.
38. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 5-250 раз больше массы соединения А.
39. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 12,5-125 раз больше массы соединения А.
40. Состав по любому из пп.12-37, в котором количество вносимого в смесь антиоксиданта В в 25-50 раз больше массы соединения А.
41. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0001-0,65 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.
42. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0002-0,35 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.
43. Состав по любому из пп.1-40, в котором масса соединения А в 0,0005-0,065 раз меньше массы, полученной при исключении соединения А из лиофилизированного состава.
44. Состав по любому из пп.1-43, в котором значения D_{90} размера частиц в эмульсии сразу после получения и в эмульсии, восстановленной после 6-месячного хранения при 25°C в виде лиофилизированного состава, составляют 1000 нм или меньше.
45. Состав по любому из пп.1-44, в котором повышение содержания примеси, которая выявляется при 1,02-кратном времени элюирования соединения А при спектроскопическом измерении при длине волны 220 нм методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фенилгексиловой колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XP, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой, по процентам площади после 6-месячного хранения при 5°C в виде лиофилизированного состава составляет 5,0% или меньше.
46. Состав по любому из пп.1-44, в котором повышение содержания примеси, которая выявляется

при 1,02-кратном времени элюирования соединения А при спектроскопическом измерении при длине волны 220 нм методом обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с фенилгексильной колонкой (Waters, колонка Xselect CSH Phenyl-Hexyl XP, 4,6 мм × 75 мм, 2,5 мкм, модель № 186006134) при введении в количестве, соответствующем от 0,4 до 2 мкг соединения А, и элюировании чистой водой, ацетонитрилом, метанолом и трифторуксусной кислотой по процентам площади после 6-месячного хранения при 5°С в виде лиофилизированного состава составляет 1,0% или меньше.

47. Состав по любому из пп.1-46, в котором значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент начала хранения в лиофилизированном виде составляет 1000 нм или менее.

48. Способ получения лиофилизированного состава эмульсии для использования в качестве вакцинного адьюванта согласно любому из пп.1-47, включающий

растворение соединения А или его фармацевтически приемлемой соли в масляном ингредиенте, содержащем сквалан, антиоксидант А, выбранный из группы, состоящей из сложных эфиров аскорбата, неорганических солей аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты, с получением композиции А;

растворение водных ингредиентов, содержащих эксципиент А, выбранный из группы, состоящей из невосстанавливающих сахаров и сахароспиртов, в стерильной воде для инъекций с получением композиции В;

эмульгирование смеси композиций А и В, чтобы они диспергировали для получения эмульсии; и лиофилизацию эмульсии с получением лиофилизированного состава.

49. Способ по п.48, где значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент начала хранения в лиофилизированном виде составляет 1000 нм или менее.

50. Способ по любому из пп.48 или 49, далее включающий хранение лиофилизированного состава и

восстановление эмульсии из лиофилизированного состава,

где значение D_{90} размера частиц в эмульсии на момент восстановления эмульсии составляет 1000 нм или менее.

51. Эмульсионная композиция, которая представляет собой состав по любому из пп.1-47 после восстановления.

52. Вакцина, включающая состав по любому из пп.1-47 и антиген.

53. Вакцина по п.52, в которой антиген получен из патогена.

54. Набор, включающий состав по любому из пп.1-47 и антиген.

