

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047009**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.05.27

(21) Номер заявки
202392010

(22) Дата подачи заявки
2023.08.11

(51) Int. Cl. **C07D 401/06** (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОЕ СОЕДИНЕНИЕ N-МЕТИЛ-2-[[3-(E)-2-(ПИРИДИН-2-ИЛ)ЭТЕНИЛ]-1Н-ИНДАЗОЛ-6-ИЛ]СУЛЬФАНИЛ]БЕНЗАМИДА И ЛАКТОЗЫ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(43) **2024.05.22**

(96) **2023000154 (RU) 2023.08.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"АКСЕЛЬФАРМ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Иванов Андрей Сергеевич, Скорняков
Юрий Владимирович, Торчинов
Георгий Юрьевич (RU)**

(74) Представитель:
Иванов А.С. (RU)

(56) RU-C2-2518898
WO-A1-2016178150
WO-A1-2006048751
CA-A1-2928287
MINO R.CAIRA. Crystalline Polymorphism of Organic Compounds. TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1998, Vol. 198, p. 163-208, doi: 10.1007/3-540-69178-2_5, особенно, с. 164-166
NARAYAN VARIANKAVAL et al. From Form to Function: Crystallization of Active Pharmaceutical Ingredients. AIChE Journal, July 2008, Vol. 54, No. 7, p. 1682-1688, особенно, с. 1682 "Crystal Form"; doi:10.1002/aic.11555
RU-C2-2777433

(57) Изобретение относится к области химии и фармакологии и включает кристаллическое супрамолекулярное соединение акситиниба с лактозой, способ его получения и противоопухолевую фармацевтическую композицию на его основе. Вещество по изобретению характеризуется сигналами при 10,02; 12,51; 16,40; 19,57; 19,99; 20,90 и 21,29 ±0,10° угла 2θ на порошковой дифрактограмме, полученной в излучении Cu-Kα с длиной волны 1,54056 Å. Техническими результатами изобретения являются получение неизвестного ранее супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы, обладающего улучшенной растворимостью и фармакокинетическими характеристиками по сравнению с известной кристаллической формой XLI, а также создание фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанное соединение, отличающейся улучшенной терапевтической эффективностью при лечении опухолей и меньшим накоплением примесей при хранении. Способ получения супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы отличается хорошей масштабируемостью.

B1**047009****047009****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области химии и фармакологии и включает супрамолекулярное соединение N-метил-2-[[3-[(E)-2-(пиридин-2-ил)этинил]-1H-индазол-6-ил]сульфанил]бензамида (акситиниба) с лактозой, способ его получения и противоопухолевую фармацевтическую композицию на его основе.

Под супрамолекулярным соединением понимается комплекс между двумя молекулярными фрагментами, образованный нековалентными взаимодействиями, такими как водородные связи, гидрофобные взаимодействия, вандерваальсовы силы, π - π взаимодействия и прочими.

Предшествующий уровень техники

Акситиниб представляет собой мощный и селективный ингибитор тирозинкиназы рецепторов фактора роста эндотелия сосудов VEGFR-1, VEGFR-2 и VEGFR-3, участвующих в механизмах патологического ангиогенеза, опухолевого роста и метастазирования злокачественных новообразований. Акситиниб обеспечивает мощное ингибирование VEGFR-опосредованной пролиферации и выживаемости клеток эндотелия, ингибирует фосфорилирование VEGFR-2 в сосудах ксенотрансплантатов злокачественных новообразований, экспрессирующих рецепторы-мишени *in vivo* и обеспечивает замедление опухолевого роста, регресс и ингибирование метастазирования многих экспериментальных моделей злокачественных новообразований.

Акситиниб был одобрен Управлением по контролю лекарственных средств и пищевых продуктов США в 2012 году и на рынке представлен под торговым наименованием Инлита (Inlyta®). Согласно инструкции по применению ЛП-№(001121)-(РГ-RU) препарат показан для лечения взрослых пациентов с распространенным почечно-клеточным раком в качестве терапии второй линии.

Молекула акситиниба имеет несколько вращаемых связей и атомов, способных образовывать водородные связи, благодаря чему проявляет выраженную склонность к полиморфизму. Помимо истинных полиморфов акситиниб образует кристаллические сольваты с водой (гидраты) и органическими растворителями (сольваты).

Безводная кристаллическая форма XLI, а также формы XXV, XVI (сольват с изопропанолом), VIII (сольват с ТГФ), IX (гидрат), XII (сольват с этанолом), XV (сольват с этанолом) описаны в патенте РФ № 2518898 (опубл. 10.06.2014). Все полиморфы охарактеризованы данными порошковой рентгеновской дифракции (см. табл. 1), твердотельной ЯМР-спектроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). В публикации отмечено, что кристаллическая форма XLI является термодинамически наиболее устойчивой, исходя из данных о ее плотности, теплоты плавления и растворимости. В том же источнике описана фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму XLI, которая эффективна при лечении аномального роста клеток.

В международной публикации WO 2016178150 A1 (опубл. 10.11.2016) описаны три основные кристаллические формы акситиниба: SAB-I, SAB-II, SAB-III. Из них SAB-I представляет собой несольватированный полиморф, форма SAB-II - акситиниба моногидрат, а кристаллическая форма SAB-III - сольват с метанолом. Данные рентгенофазового анализа этих форм приведены в табл. 1. Авторы отмечают, что полиморф SAB-I является наиболее термодинамически стабильным, устойчивым к изменениям в окружающей среде при длительном хранении.

В международной публикации WO 2006048751 A1 (опубл. 11.05.2006) приведено семь различных кристаллических форм акситиниба. Для каждой из них представлены данные рентгенофазового анализа (табл. 2), дифференциальной сканирующей калориметрии, рамановской (КР) спектроскопии, а также указаны температуры плавления, растворимость в воде и фотостабильность. Для кристаллической формы IV в примере 8 указан способ получения фармацевтической композиции в форме таблеток.

В работе [A. M. Campeta, B. P. Chekal, Y. A. Abramov, P. A. Meenan, M. J. Henson, B. Shi, R. A. Singer, K. R. Horspool "Development of a Targeted Polymorph Screening Approach for a Complex Polymorphic and Highly Solvating API", J. Pharm. Sci., 2010, 99 (9), 3874-3886] авторы исследовали склонность акситиниба к образованию сольватов с водой, спиртами и другими органическими растворителями. В публикации приведено 64 полиморфа акситиниба.

Фармацевтическая композиция для местного применения в офтальмологии заявлена в международной патентной публикации WO 2013188273 A1 (опубл. 19.12.2013). В качестве активного ингредиента может использоваться акситиниб, его гидрат, сольват или фармацевтически приемлемая соль, а также один из полиморфов акситиниба. Фармацевтическая композиция представляет собой микронизированную суспензию.

В патентной заявке US 20080274192 A1 (опубл. 16.11.2008) описана фармацевтическая композиция, содержащая акситиниб или его фармацевтически приемлемую соль в аморфном состоянии. Кроме того, заявлена композиция на основе твердой дисперсии аморфного акситиниба в полимерной матрице. Аморфную твердую дисперсию получали методом распылительной сушки.

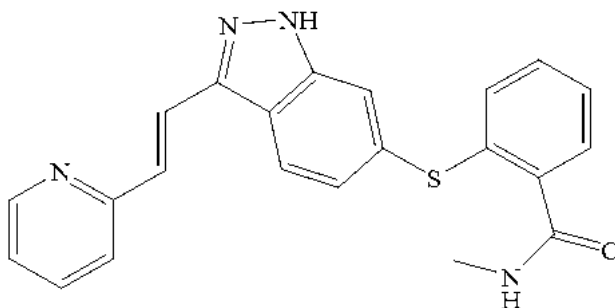
Полиморфные формы лекарственного вещества могут иметь различные физические и химические свойства. В практике фармацевтической разработки часто используют наиболее стабильную полиморфную форму, поскольку она имеет наименьший потенциал превращения из одной полиморфной формы в другую. С другой стороны, метастабильная форма может использоваться для эффективного

повышения растворимости и, как следствие, биодоступности. Поиск баланса между приемлемыми показателями стабильности и биодоступности создает широкое экспериментальное поле для поиска новых решений.

Таким образом, задачей настоящего изобретения является создание такой формы акситиниба, которая бы обладала достаточно высокой стабильностью и биодоступностью. Данная проблема была решена путем создания кристаллического супрамолекулярного соединения акситиниба с фармацевтически приемлемым нейтральным носителем. Возможность решения поставленной задачи неочевидна для специалиста ввиду противоречия между хорошей стабильностью и высокой биодоступностью. Специалисту очевидно, что выраженная склонность акситиниба к полиморфизму усложняет задачу получения новой стабильной и одновременно высоко биодоступной кристаллической формы из-за легкости взаимопревращений твердых метастабильных форм данного соединения в соответствии с правилом фаз Оствальда.

Раскрытие сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к супрамолекулярному соединению N-метил-2-[[3-[(E)-2-пиридин-2-илэтинил]-1H-индазол-6-ил]сульфанил]бензамида (акситиниба) и лактозы, а также фармацевтической композиции для лечения опухолевых заболеваний, содержащей указанное супрамолекулярное соединение. Акситиниб представляет собой противоопухолевое средство, обладающее свойствами ингибитора протеинкиназы, и характеризуется следующей структурной формулой:



Брутто-формулой: $C_{22}H_{18}N_4OS$

Молекулярной массой: 386,47.

Супрамолекулярное соединение было синтезировано путем смешивания раствора лактозы и акситиниба в подходящем растворителе с последующим замораживанием и лиофилизацией (пример 1). В качестве подходящего растворителя предпочтительно использовать ДМСО, уксусную кислоту или их смеси с водой. Сырьевой акситиниб и лактозы моногидрат использовали в стехиометрическом соотношении 1:1 или близких к указанному. При использовании молярного избытка одного из реагентов, получали смеси супрамолекулярного соединения по настоящему изобретению и реагента, взятого в избытке. Соотношение акситиниба и лактозы 1:1 в супрамолекулярном соединении, полученном по примеру 1, подтверждено данными 1H ЯМР и элементного анализа. В качестве исходного сырья для синтеза использовали коммерчески доступный кристаллический акситиниб, для которого была определена кристаллическая форма IV, известная из международной публикации WO 2006048751 A1, а также лактозы моногидрат. Представленная на фиг. 3 порошковая дифрактограмма нового синтезированного супрамолекулярного соединения отличается как от порошковой дифрактограммы исходного акситиниба (фиг. 1), так и от порошковой дифрактограммы лактозы моногидрата (фиг. 2). Рентгенограмма супрамолекулярного соединения характеризуется следующими значениями дифракционных максимумов, вычисленных из соответствующих межплоскостных расстояний:

№ пика	Угол 2θ , °	Межплоскостное расстояние d , Å
1	7,99	11,06
2	9,00	9,81
3	10,02	8,82
4	12,51	7,07
5	13,46	6,57
6	16,40	5,40
7	18,19	4,87
8	18,72	4,74
9	19,13	4,64
10	19,57	4,53
11	19,99	4,44

12	20,90	4,25
13	21,29	4,17
14	23,78	3,74
15	25,26	3,52
16	26,28	3,39
17	31,53	2,84
18	33,18	2,70
19	37,57	2,39

Значения углов 2θ приведены с учетом возможной погрешности величин углов $2\theta \pm 0,10^\circ$.

Сравнивая рентгенограммы известных полиморфов и сольватов акситиниба, можно сделать вывод о получении нового кристаллического супрамолекулярного соединения. Кроме того, для вещества по настоящему изобретению были получены термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрическая кривая. На термограмме ДСК наблюдаются эндотермические эффекты с температурами около 105°C и 180°C (фиг. 4). Кривая термогравиметрического анализа супрамолекулярного соединения по настоящему изобретению представлена на фиг. 5.

Микрофотографии порошка кристаллического супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы по примеру 1 и примеру 2 приведены на фиг. 6. Морфология полученного продукта отличалась от таковой для сырьевого акситиниба и лактозы моногидрата.

Супрамолекулярное соединение по изобретению оставалось фазово-стабильным, как минимум, в течение 18 месяцев при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60 \pm 5\%$ (пример 5).

Авторами была исследована растворимость полученного соединения акситиниба и лактозы методом спектрофотометрии, которая неожиданно оказалась примерно в 4 раза выше растворимости исходной кристаллической формы акситиниба (пример 6).

Фармацевтическая композиция, согласно предлагаемому изобретению, включает фармакологически активное (действующее) вещество и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, где действующее вещество представляет собой супрамолекулярное соединение акситиниба с лактозой. Для композиции по настоящему изобретению было обнаружено более медленное накопление примесей по сравнению с известной фармацевтической композицией по примеру 3 в условиях ускоренного старения в течение 12 месяцев (пример 7).

В примерах 4.1 и 4.2 описано получение фармацевтической композиции в форме таблеток, покрытых оболочкой, содержащих супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы. В качестве сравнения (пример 3) была воспроизведена методика примера 8 международной патентной публикации WO 2013046133 A1, где использовали известную кристаллическую форму XLI акситиниба.

Фармакокинетика полученного нами соединения акситиниба с лактозой исследовалась на крысах линии Вистар (пример 9). Животные из первой группы получали акситиниб известной кристаллической формы XLI, их использовали в качестве контроля. Супрамолекулярное соединение по настоящему изобретению вводилось двум другим группам животных. Было обнаружено, что в группах 2 и 3, получавших заявленное соединение, наблюдалась большая максимальная концентрация действующего вещества, а также площадь под фармакокинетической кривой, при этом показатель t_{max} уменьшался.

Исследование терапевтической эффективности проводили на модели ксенотрансплантата RP-R-01, полученной из кожного метастаза пациента (пример 10). Для эксперимента использовали безтимусных мышей. Когда размер опухоли становился примерно 32 мм^2 , мышей рандомизировали для лечения. Животные получали фармацевтические композиции по примерам 3, 4.1, 4.2. Препараты вводили в течение 4 недель, затем дополнительно наблюдали животных в течение 6 недель. Лечение композицией, содержащей акситиниб известной кристаллической формы XLI, значительно сдерживало рост опухолей, но соединение с лактозой в составе композиций дополнительно усиливало противоопухолевую эффективность акситиниба. Средний размер опухоли при лечении акситинибом составил 150 мм^2 , тогда как при лечении супрамолекулярным соединением акситиниба и лактозы по настоящему изобретению - 45 и 51 мм^2 , соответственно. После завершения лечения животных умерщвляли и взвешивали опухоли в каждой группе, и было выявлено, что в группах 3 и 4 средний вес опухоли оказался меньше, чем в группах 1 и 2.

Таким образом, достигнутыми техническими результатами для заявленной группы изобретений являются получение неизвестного ранее супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы, обладающего улучшенной растворимостью и фармакокинетическими характеристиками по сравнению с известной кристаллической формой XLI, создание фармацевтической композиции, содержащей вышеуказанное соединение, отличающейся улучшенной терапевтической эффективностью и меньшим накоплением примесей при хранении. Способ получения супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы отличается хорошей масштабируемостью.

Перечень фигур чертежей

Для пояснения сущности заявляемого технического результата к описанию приложены следующие фиг. 1-7.

На фиг. 1 приведена порошковая дифрактограмма исходной кристаллической формы IV акситиниба.

На фиг. 2 приведена порошковая дифрактограмма лактозы моногидрата.

На фиг. 3 приведена порошковая дифрактограмма супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы по примеру 1.

На фиг. 4 приведена термограмма ДСК супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы по примеру 1.

На фиг. 5 приведена ТГ-кривая супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы по примеру 1.

На фиг. 6 приведены микрофотографии супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы по примеру 1 (слева) и Примеру 2 (справа).

На фиг. 7 приведен график сравнения терапевтической эффективности акситиниба в составе фармацевтической композиции: группа 1 (контроль) получала плацебо, группа 2 - композицию по примеру 3, группа 3 - композицию по примеру 4.1, группа 4 - композицию по примеру 4.2.

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

РФА проводили на дифрактометре Rigaku Ultima IV (Япония), напряжение на трубке - 40 кВ, ток трубки - 30 мА, материал анода трубки - Cu. Гониометр: Θ/Θ вертикального типа, образец неподвижен. Радиус гониометра - 185 мм/285 мм. Максимумы на дифрактограмме накапливались в течение 1 ч. Дифрактограммы регистрировались в диапазоне углов 2θ от 2 до 70° . Спектры инфракрасного излучения получали на ИК-Фурье спектрометре Perkin Elmer Spectrum с приставкой диффузного отражения в диапазоне $4000-600\text{ см}^{-1}$ с разрешением 2 см^{-1} , количество сканов - 10. Высушивание замороженных образцов выполнялось в пенициллиновых пузырьках на сублиматоре Heto FD 2.5 при давлении 0,1-0,2 мбар в течение 24-36 ч, в ряде случаев использовался подогрев полок до 30°C . Элементный анализ проводился с использованием анализатора PerkinElmer 2400 серии CHNS/O. Спектры ^1H ЯМР были зарегистрированы в насыщенном растворе в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMCO-d_6) на ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE 600 на рабочих частотах 600 МГц. Высокоэффективную хроматографию осуществляли на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), снабженном диодно-матричным детектором с переменной длиной волны. Капиллярная кварцевая колонка - Waters Symmetry C_{18} (150 мм×4,6 мм) с размером частиц 5 мкм.

Возможность осуществления заявленной группы изобретений иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается только ими.

Пример 1. Получение супрамолекулярного соединения акситиниба с лактозой.

Навеску лактозы моногидрата (46,6 мг) растворяли в 11 мл смеси DMCO -вода (4:1 V/V) при $35-40^\circ\text{C}$. Затем при дальнейшем нагревании до 60°C , добавили навеску акситиниба (50,0 мг). Раствор при перемешивании и подогреве в течение около 20 мин стал прозрачным. Полученный раствор заморозили в жидком азоте и высушили на сублиматоре под вакуумом. Продукт на сублиматоре подтаивал, пока набирался вакуум, однако, дойдя до примерно 0,1 мбар, образец становился полностью сухим (замороженным). Данные рентгенофазового анализа, дифференциальной сканирующей калориметрии и термогравиметрического анализа приведены на фиг. 3, 4 и 5 соответственно. Найдено: С (56,52%); Н (5,47%); N (7,50%); S (4,48%). Рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ С (56,04%); Н (5,54%); N (7,69%); O (26,34%); S (4,40%).

Пример 2. Получение супрамолекулярного соединения акситиниба с лактозой.

Навеску лактозы моногидрата (5,0 г) растворили в 0,8 л DMCO при нагреве до $35-40^\circ\text{C}$. Затем при дальнейшем нагревании до 60°C добавили навеску акситиниба (5,36 г). Раствор при перемешивании и подогреве в течение 40 мин стал прозрачным. Полученный раствор заморозили в жидком азоте и высушили на сублиматоре. Найдено: С (56,00%); Н (5,61%); N (7,72%); S (4,29%). Рассчитано для $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ С (56,04%); Н (5,54%); N(7,69%); O (26,34%); S (4,40%).

Пример 3. Получение фармацевтической композиции, содержащей кристаллическую форму XLI акситиниба, в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой, 5 мг (пример сравнения).

Акситиниб, кристаллическая форма XLI - 0,560 кг;

Целлюлоза микрокристаллическая - 12,032 кг;

Лактозы моногидрат - 6,272 кг;

Кроскармеллоза натрия - 0,588 кг;

Магния стеарат - 0,148кг;

Опадрай II розовый- 1,019 кг.

Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 5 мг акситиниба формы XLI получили путем смешивания микрокристаллической целлюлозы, кристаллической формы XLI акситиниба, лактозы и кроскармеллозы натрия в подходящем смесителе. Смесь измельчили в просеивающей мельнице и затем

смешали в диффузионном смесителе. К измельченной смеси добавили некоторое количество стеарата магния и дополнительно перемешивали. Смесь уплотнили вальцами, а затем измельчили в грануляторе. Полученный материал добавили в смеситель с оставшимся количеством стеарата магния и перемешали. Затем смесь таблетировали с использованием таблеточного пресса. Полученные таблетки покрывали пленкой Opadry® II розовый. Конечная масса таблетки составила 182,0 мг.

Пример 4.1. Получение фармацевтической композиции, содержащей супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы, в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой, 5 мг в расчёте на акситиниб.

Супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы по примеру 1 - 108,2 г;

Целлюлоза микрокристаллическая - 1203,2 г;

Лактозы моногидрат - 574,9 г;

Кроскармеллоза натрия - 58,8 г;

Магния стеарат - 14,8 г;

Опадрай II розовый - 1,9 г.

Микрокристаллическую целлюлозу, супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы, лактозу моногидрат и кроскармеллозу натрия смешали в подходящем смесителе. Смесь измельчили в просеивающей мельнице и затем дополнительно перемешали в диффузионном смесителе. К измельченной смеси добавили некоторое количество стеарата магния и дополнительно перемешивали. Смесь уплотнили вальцами, а затем измельчили в грануляторе. Полученный материал добавили в смеситель с оставшимся количеством стеарата магния и перемешали. Затем смесь таблетировали с использованием таблеточного пресса. Полученные таблетки покрывали пленкой Opadry® II розовый. Конечная масса таблетки составила 182,0 мг.

Пример 4.2. Получение фармацевтической композиции, содержащей супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы, в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой, 5 мг в расчете на акситиниб.

Супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы по примеру 2 - 1,082 кг;

Целлюлоза микрокристаллическая - 12,032 кг;

Лактозы моногидрат - 5,749 кг;

Кроскармеллоза натрия - 0,588 кг;

Магния стеарат - 0,148 кг;

Опадрай II розовый - 1,019 кг.

Микрокристаллическую целлюлозу, супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы, лактозу моногидрат и кроскармеллозу натрия смешали в подходящем смесителе. Смесь измельчили в просеивающей мельнице и затем дополнительно перемешали в диффузионном смесителе. К измельченной смеси добавили некоторое количество стеарата магния и дополнительно перемешивали. Смесь уплотнили вальцами, а затем измельчили в грануляторе. Полученный материал добавили в смеситель с оставшимся количеством стеарата магния и перемешали. Затем смесь таблетировали с использованием таблеточного пресса. Полученные таблетки покрывали пленкой Opadry® II розовый. Конечная масса таблетки составила 182,0 мг.

Пример 5. Исследование фазовой стабильности супрамолекулярного соединения.

Стабильность образцов супрамолекулярного соединения, полученных по примерам 1 и 2, была подтверждена отсутствием смещения за пределами доверительного интервала $\pm 0,1$ град или возникновения дополнительных пиков в спектре порошковой рентгеновской дифракции после 18 месяцев хранения при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60 \pm 5\%$.

Пример 6. Спектрофотометрическое определение растворимости супрамолекулярного соединения акситиниба и лактозы моногидрата.

Навеску субстанции (10 мг) растворили в 1 мл подкисленной воды (pH 4-5). Нерастворившийся осадок отфильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Отмечали интенсивность характеристического сигнала акситиниба при длине волны 360 нм.

Образец	Сигнал, I, о.е. при $\lambda=360$ нм	Относительная растворимость, %
Акситиниб крист. формы IV	0,44	25,1
Супрамолекулярное соединение по примеру 1	1,75	100,0

Пример 7. Исследование стабильности фармацевтической композиции.

Ускоренные испытания стабильности композиции проводились в течение 12 месяцев при температуре $40 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $75 \pm 5\%$. На основании результатов изучения стабильности подтвержден срок годности лекарственного препарата при комнатной температуре в течение, как минимум, 24 месяцев.

Таблица 3

Данные о стабильности лекарственного препарата, полученного по примеру 3

Показатель	Критерии приемлемости	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворение	Не менее чем 80% должно высвободиться в среду растворения через 45 мин	87,3	89,6	90,2	85,1	86,9
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,73	0,75	0,80	0,92	0,99
Количественное определение	Содержание акситиниба должно быть от 95% до 105%	98,53	98,71	99,34	100,03	101,00

Таблица 4

Данные о стабильности лекарственного препарата, полученного по примеру 4.1

Показатель	Нормативные требования	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворение	Не менее чем 80% должно высвободиться в среду растворения через 45 мин	98,7	96,5	96,3	98,5	97,9
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,32	0,44	0,46	0,50	0,56
Количественное определение	Содержание акситиниба должно быть от 95% до 105%	100,60	99,89	100,72	100,06	99,41

Таблица 5

Данные о стабильности лекарственного препарата, полученного по примеру 4.2

Показатель	Нормативные требования	0 мес.	3 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.
Подлинность	Время удерживания основного пика на хроматограмме	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Растворение	Не менее чем 80% должно высвободиться в среду растворения через 45 мин	95,7	96,2	95,3	94,6	97,1
Сумма примесей	Не более 1,0%	0,37	0,41	0,44	0,58	0,67
Количественное определение	Содержание акситиниба должно быть от 95% до 105%	99,81	99,23	99,99	100,01	98,78

Пример 8. Количественное определение акситиниба в фармацевтической композиции по примерам 4.1 и 4.2.

В мерной колбе готовили испытуемый раствор, содержащий примерно 0,04-0,07 мг/мл супрамолекулярного комплекса по примерам 1 и 2 в растворителе. Для полного растворения образца раствор перемешивали на шейкере в течение 30 мин. Затем испытуемый раствор отстаивали в течение не менее 30 мин. Полученный раствор фильтровали для анализа методом ВЭЖХ (например, через фильтр из ПТФЭ с диаметром пор 0,45 мкм Acrodisc®), отбросив первые 5 мл фильтрата.

Колонка - Waters XBridge C18 (3,0×50 мм, размер частиц 3,5 мкм);

Объем вводимой пробы - 10 мкл;

Детекция - УФ, 360 нм;

Режим элюирования - изократический;

Органический компонент подвижной фазы - ацетонитрил, 20%;

Буфер подвижной фазы - трифторуксусная кислота, 0,1%;

Температура колонки - 45-55°C;

Скорость потока - 07-0,9 мл/мин;

Время выполнения - 3,0 мин.

Содержание акситиниба ($C_{22}H_{18}N_4OS$) в таблетке должно быть от 95,0% до 105,0% от заявленного; для дозировки 5 мг - от 4,75 до 5,25 мг.

За результат количественного определения принимают среднее арифметическое единичных значений содержания, полученных при испытании однородности дозирования.

	Композиция по примеру 4.1	Композиция по примеру 4.2	Нормативное значение для дозировки 5 мг
Содержание акситиниба, %	100,6	99,8	От 95,0% до 105,0%

Пример 9. Исследование фармакокинетических параметров супрамолекулярного соединения по примеру 1 и 2.

Крысы самцы линии Вистар массой 155-185 г в возрасте 7-8 недель содержались в стандартных лабораторных условиях при температуре 22-24°C и влажности 45 ±5%. Животные имели свободный доступ к еде и воде.

Животные были разделены на 3 группы, по 12 особей в каждой. Первой группе вводился акситиниб известной кристаллической формы XLI, второй группе - супрамолекулярное соединение по примеру 1, третьей - супрамолекулярное соединение по примеру 2. Субстанция вводилась через желудочно-кишечный зонд однократно в дозировке 50 мг/кг в виде водной суспензии с добавлением 0,5% раствора карбоксиметилцеллюлозы.

Образцы крови объемом 200 мкл отбирались из хвостовой вены через 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24; 48; 72 и 96 ч после введения препарата и помещались в капилляры с гепарином. Плазма центрифугировалась при комнатной температуре, затем хранилась при температуре -80°C. Образцы плазмы анализировались при помощи ВЭЖХ для определения концентрации акситиниба.

Таблица 6

Данные о фармакокинетике акситиниба формы XLI и супрамолекулярного соединения *in vivo* на крысах-самцах линии Вистар

Параметр	Акситиниб кристаллической формы XLI	Супрамолекулярное соединение по примеру 1	Супрамолекулярное соединение по примеру 2
C_{max} , мг/мл	0,02	0,06	0,07
AUC, мг×ч/мл	0,06	0,09	0,10
t_{max} , ч	5,0	1,3	1,3

Пример 10. Исследование терапевтического эффекта супрамолекулярного соединения по изобретению.

Безтимусным мышам подкожно имплантировали в область правого бока кусочки опухолей RP-R-01 размером примерно 4 мм². Лечение начинали, когда средний размер опухоли составлял примерно 35 мм². Мышей рандомизировали в четыре группы по 12 особей в каждой. Первая группа (контроль) получала плацебо, вторая группа - фармацевтическую композицию по примеру 3, третья - фармацевтическую композицию по примеру 4.1, четвертая - фармацевтическую композицию по примеру 4.2. Фармацевтическую композицию измельчали и суспендировали в 0,5% растворе карбоксиметилцеллюлозы, в качестве плацебо использовался 0,5% раствор карбоксиметилцеллюлозы. Дозировка акситиниба составила 36 мг/кг во всех случаях. Препарат вводили перорально через желудочно-кишечный зонд 2 раза в день в течение 4 недель. Дальнейшее наблюдение продолжали в течение 6 недель.

Измерения размеров опухоли проводили штангенциркулем каждые 5 дней в течение периода наблюдений. Объем опухоли рассчитывался по формуле $V=(L \times D^2)/2$, где L - длина, D - ширина опухолевого узла. При достижении опухолью среднего размера 200 мм² мышью умерщвляли. Изменение объема опухолей в каждой группе приведено на фиг. 7.

Таблица 1

Данные порошковой рентгеновской дифракции известных кристаллических форм акситиниба

RU 2518898 C2 ($\pm 0,1^\circ 2\theta$)						WO 2016178150 A1			
XLI	XXV	IX гидрат	XII сольват с EtOH	XV (сольват с EtOH)	XVI	VIII сольват с ТГФ	SAB-I	SAB-II гидрат	SAB-III сольват с MeOH

6,00	5,10	7,70	9,10	5,30	5,80	10,70	8,30	7,50	10,10
11,50	7,90	8,10	9,60	7,60	9,10	12,30	9,30	8,00	10,40
11,90	10,20	8,50	10,30	9,20	10,20	13,20	15,60	14,20	15,30
12,50	10,70	12,50	11,90	10,10	10,60	15,70	16,50	14,70	18,30
12,90	12,60	13,00	13,20	10,70	11,90	16,30	17,60	15,70	18,70
14,90	14,80	14,00	14,50	11,90	13,20	16,60	21,00	18,10	19,70
15,60	15,10	14,00	16,80	12,60	14,40	18,00	24,10	20,10	24,60
16,20	15,20	14,40	17,80	15,20	15,20	19,30	26,00	24,40	
16,50	15,90	14,80	18,10	15,90	15,70	20,00		29,80	
17,90	16,90	15,30	19,60	16,80	16,80	20,30		32,00	
19,90	18,20	15,90	20,70	17,70	17,90	20,70			
20,70	19,40	16,30	21,70	18,30	18,20	21,10			
21,00	19,80	16,60	23,20	19,50	19,70	21,60			
21,60	20,00	17,30	24,00	20,10	20,60	22,00			
22,40	20,40	18,30	25,30	21,10	21,20	22,60			
22,80	21,00	18,70	25,90	21,50	21,70	23,60			
23,10	21,50	20,20	28,10	23,90	23,20	24,40			
24,20	21,70	21,00	29,70	25,00	24,10	25,20			
24,50	22,60	21,30	31,20	25,30	25,40	25,80			
25,00	22,80	21,90	32,00	26,30	25,90	26,50			
25,30	23,40	22,40	33,10	29,60	27,20	27,90			
25,60	24,20	23,10	33,70	30,70	28,00	28,50			
25,90	24,80	24,10	34,50	31,30	29,00	29,20			
26,40	24,90	24,60	36,40	33,50	29,80	30,00			
26,90	25,40	25,70	36,90	34,40	31,10	31,00			
27,70	25,70	26,10	37,30			31,80			
28,00	26,20	26,50	38,90			32,70			
28,10	26,50	27,50	39,30						
28,50	26,70	28,00							
29,90	28,30	28,20							
30,90	29,00	28,60							
31,50	29,60	30,00							
32,90	29,80	30,40							
33,20	30,40	31,20							
34,80	30,80	31,60							
35,00	31,40	32,20							
36,10	31,80	32,70							
	32,10	33,40							
	32,50	34,20							
	33,10	34,50							
	33,90	35,20							
	34,30	37,00							
	34,80	38,00							
	35,50	39,60							
	36,10								
	36,90								
	37,30								
	37,70								
	38,50								
	38,60								
	39,10								
	39,60								

Таблица 2
Данные порошковой рентгеновской дифракции известных кристаллических форм акситиниба

WO 2006048751 A1							
I	II	III	IV	VI	VII	VIII	

8,10	8,50	10,50	8,90	9,60	9,40	10,70
9,10	10,90	13,00	12,00	11,60	10,20	15,50
10,60	14,80	13,30	14,60	17,50	16,20	15,90
15,40	16,20	15,80	15,20	18,10	17,00	20,60
16,30	18,80	16,40	15,70	19,90	18,90	22,70
17,40	21,50	17,50	17,80	25,20	19,70	24,60
18,20	24,80	19,50	19,20		21,50	25,90
18,50	25,90	19,50	20,50		22,70	26,30
20,00	30,30	20,10	21,60		23,60	32,00
20,80	32,20	21,40	23,20		25,10	
23,20		21,70	24,20		26,20	
24,00		24,10	24,80		27,40	
25,90		25,00	26,20		29,30	
27,40		26,90	27,50			
29,80						

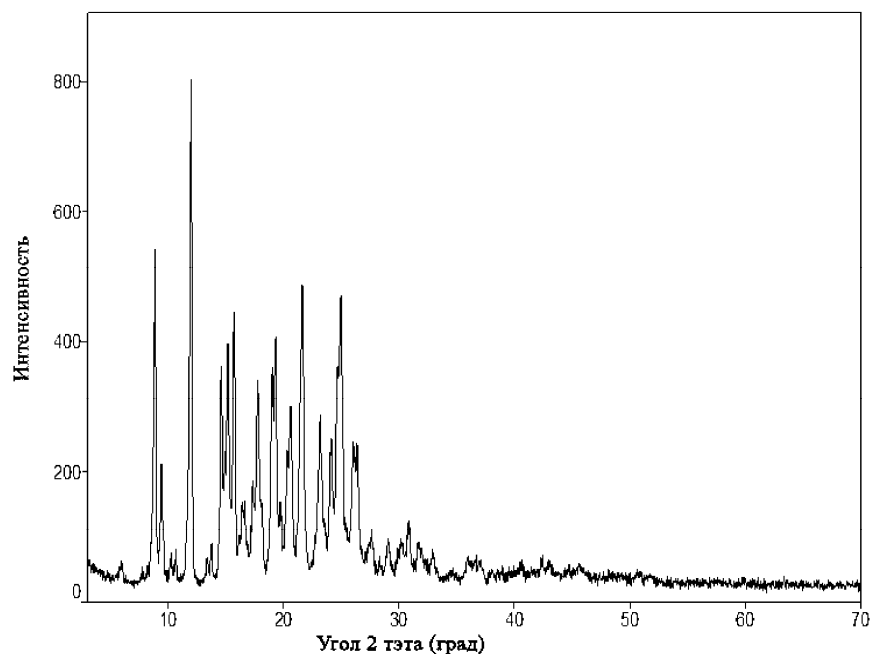
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическое супрамолекулярное соединение акситиниба и лактозы, характеризующееся сигналами при 10,02; 12,51; 16,40; 19,57; 19,99; 20,90 и 21,29 $\pm 0,10^\circ$ угла 2θ на порошковой дифрактограмме, полученной в излучении Cu-K α с длиной волны 1,54056 Å.

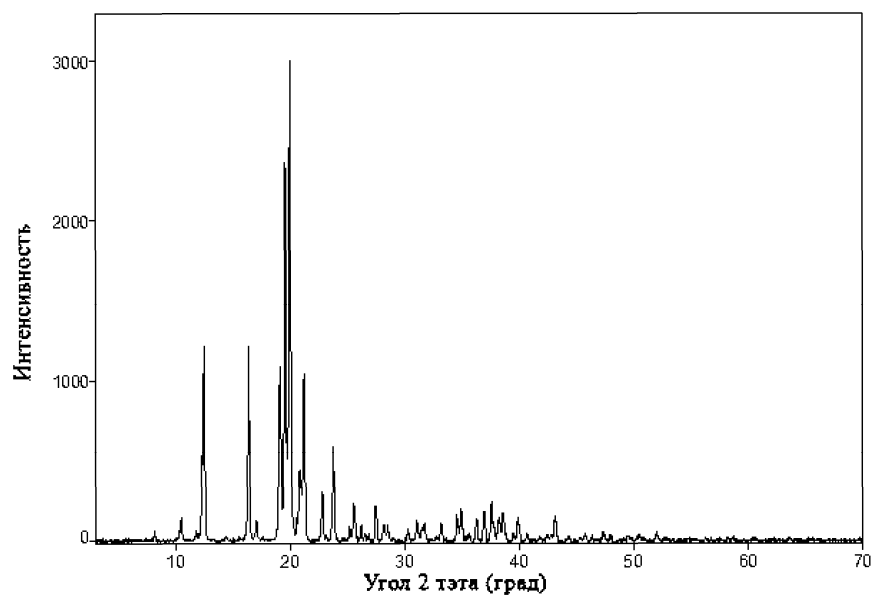
2. Соединение по п.1, дополнительно характеризующееся сигналами при 7,99; 9,00; 13,46; 18,19; 18,72; 19,13; 23,78; 25,26; 26,28; 31,53; 33,18; 37,57 $\pm 0,10^\circ$ угла 2θ на порошковой дифрактограмме, полученной в излучении Cu-K α с длиной волны 1,54056 Å.

3. Способ получения соединения по п.1 или 2, включающий стадии приготовления раствора акситиниба и лактозы моногидрата с последующим замораживанием раствора и высушиванием на сублиматоре.

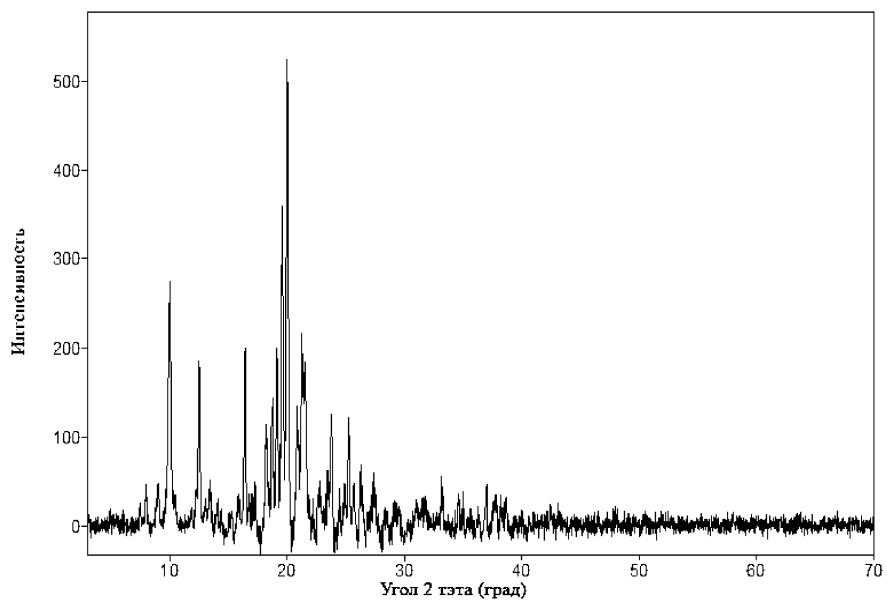
4. Фармацевтическая композиция для лечения опухолевых заболеваний, содержащая соединение по п.1 или 2 и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.



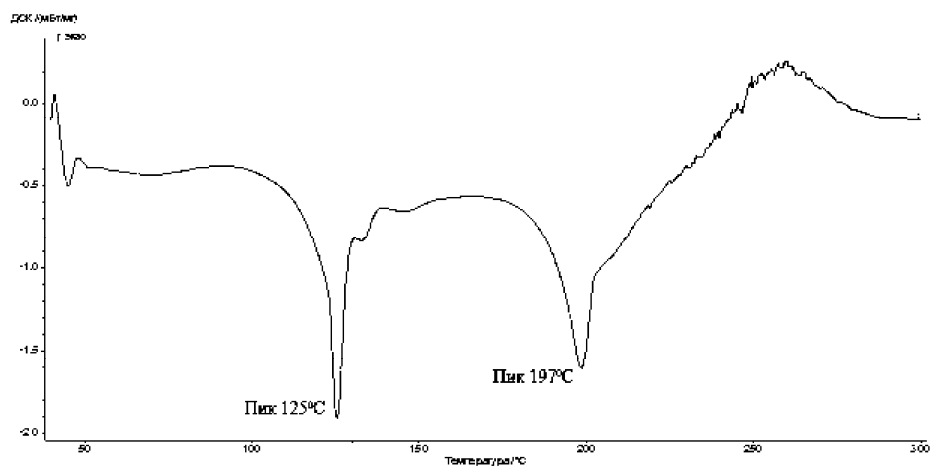
Фиг. 1



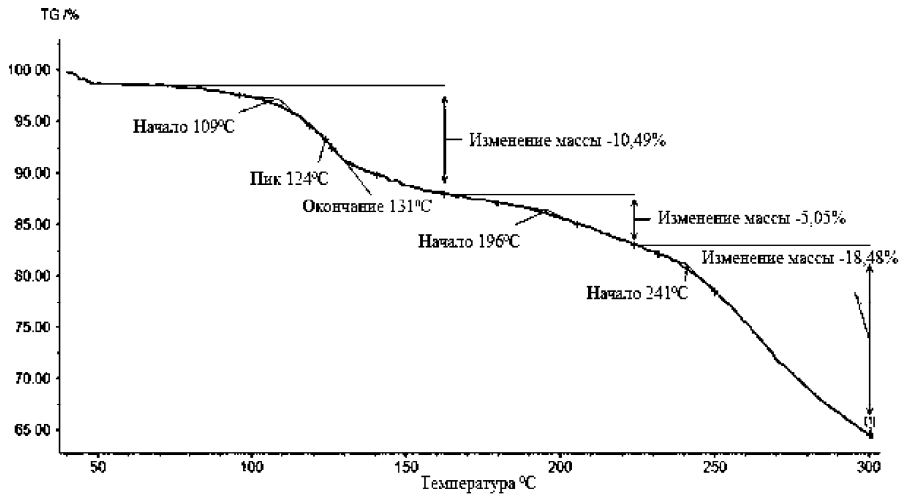
Фиг. 2



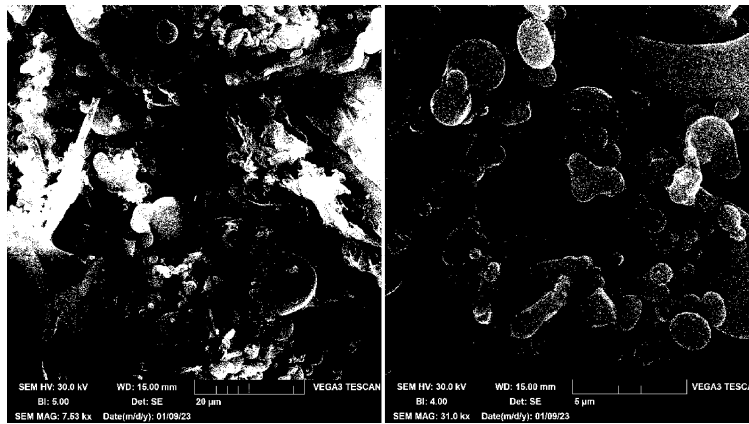
Фиг. 3



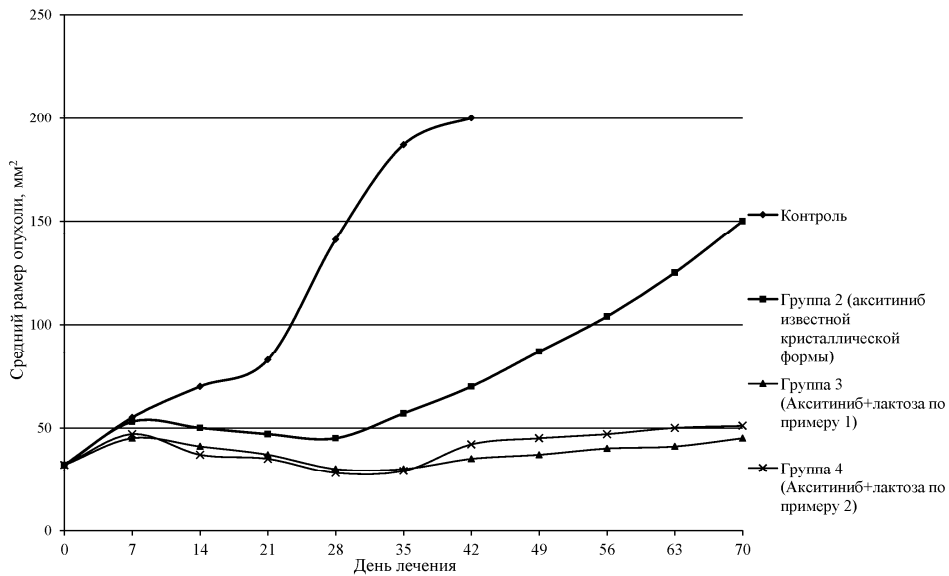
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7