

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047824**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.09.17

(21) Номер заявки
202391292

(22) Дата подачи заявки
2023.05.26

(51) Int. Cl. **C07D 401/12** (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ ФОРМА N-(4-БРОМ-2-ФТОРФЕНИЛ)-6-МЕТОКСИ-7-[(1-МЕТИЛ-4-ПИПЕРИДИНИЛ)МЕТОКСИ]-4-ХИНАЗОЛИНАМИНА, СПОСОБ ЕЁ ПОЛУЧЕНИЯ (ВАРИАНТЫ) И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(43) **2024.09.13**

(96) **2023000092 (RU) 2023.05.26**

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

(74) Представитель:
Иванов А.С. (RU)

(56) RU-C2-2448102
CN-A-106397401
CN-A-106619641
CN-A-106588881
CN-A-106581002

MINO R. CAIRA Crystalline Polymorphism of Organic Compounds, TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1998, vol. 198, p. 163-208, doi: 10.1007/3-540-69178-25, особенно с. 164-166

SHERRY L. MORISSETTE et al. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. Advanced drug delivery reviews, 2004, vol. 56, p. 275-300, особенно Section 1

NARAYAN VARIANKAVAL et al. From form to function: Crystallization of active pharmaceutical ingredients, AIChE Journal, 2008, vol. 54(7), p. 1682-1688, особенно с. 1682 "Crystal Form"; doi: 10.1002/aic.11555

(57) Изобретение включает новую кристаллическую форму N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина, способ её получения и фармацевтическую композицию на её основе для лечения онкологических заболеваний. Основным техническим результатом заключается в создании новой кристаллической формы, обладающей улучшенной биологической доступностью и терапевтической эффективностью по сравнению с известной кристаллической формой того же соединения. Предлагаемая кристаллическая форма характеризуется максимумами при 6,90; 10,34; 16,28; 17,48; 18,36; 23,25; 25,47±0,20° угла 2θ на порошковой дифрактограмме, полученной при длине волны 1,54056 Å. Способ получения кристаллической формы включает следующие стадии: приготовление раствора сырьевого N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина в 95% этаноле; смешивание полученного раствора с водой с образованием суспензии; выделение осадка продукта и замораживание его жидким азотом; сублимационная сушка замороженного осадка при температурах на конденсаторе от примерно -50 до примерно -56°C, на продукте от примерно -196 до примерно 30°C и остаточном давлении в камере от 8×10⁻² до 5×10⁻² мм рт. ст.; запекание полученного лиофилизата при температуре 70±2°C.

047824 B1

047824 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к новой, неизвестной ранее ε -кристаллической форме N-(4-бром-2-фтор-фенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина (международное непроприетарное название - вандетаниб), способу её получения и применению в фармацевтических композициях, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний.

Предшествующий уровень техники

Полиморфизм представляет собой способность одного и того же химического соединения существовать в разных кристаллических формах. Разные полиморфы характеризуются различным взаиморасположением атомов внутри элементарной ячейки, что оказывает влияние на многие физико-химические свойства вещества, такие как температура плавления, плотность, твердость, стабильность, растворимость, скорость растворения, гигроскопичность. Различают полиморфизм упаковки, конформационный полиморфизм. Последний связан с тем, что молекулы вещества находятся в разных конформациях. Отдельным видом полиморфизма считается политипия, под которой понимают изменение в структуре путём небольшого смещения слоев, приводящего к увеличению периодичности в направлении перпендикулярном слоям. Под псевдополиморфизмом принято понимать различную кристаллическую форму, вызванную образованием сольватов (гидратов).

Разные полиморфы лекарственных веществ не только отличаются физическими свойствами, но также способны демонстрировать различные фармакокинетические и фармакодинамические параметры при пероральном введении их человеку или животным. В редких случаях полиморфы лекарственного соединения могут вообще не проявлять терапевтической эффективности. Показательным примером такого случая является ритонавир [J. Bauer, et al. Ritonavir: An Extraordinary Example of Conformational Polymorphism. *Pharm. Res.*, 2001, 18(6)]. Иногда использование новых полиморфов позволяет усовершенствовать технологические свойства субстанций. Так, парацетамол в своей термодинамически стабильной кристаллической форме I был известен тем, что обладал плохой прессуемостью и сыпучестью, и требовал использования большого количества вспомогательных ингредиентов для придания ему подходящих механических свойств при производстве таблетированного лекарственного препарата. Применение метастабильной кристаллической формы II позволило решить проблему плохой прессуемости и сыпучести без использования эксципиентов. При этом было показано, что трансформация формы II в форму I, происходящая в готовых таблетках в процессе их хранения, не сказывается на биодоступности вещества [P.D. Martino et al. A new pure paracetamol for direct compression: The orthorhombic form. *Int. J. Pharmaceutics*, 1996, 128, 1-8, 859-866].

Следует отметить, что обнаружение нового полиморфа с полезными свойствами для известного химического соединения далеко не всегда является итогом рутинной оптимизации условий кристаллизации путём последовательного перебора ряда условий, растворителей и т.д., а представляет собой результат творческого труда исследователей. В противном случае, все возможные полиморфы устанавливались бы в ходе первичного полиморфного скрининга. С учетом этого выполнение данной задачи может считаться важным научно-техническим достижением.

Являясь селективным ингибитором тирозинкиназы, вандетаниб подавляет активность тирозинкиназы рецептора-2 фактора роста сосудистого эндотелия (VEGR), стимулированного фактором роста сосудистого эндотелия (VEGR) в эндотелиальных клетках. Он ингибирует миграцию, пролиферацию, выживаемость эндотелиальных клеток и формирование новых кровеносных сосудов, стимулированных VEGF на *in vitro* моделях ангиогенеза. *In vivo* вандетаниб уменьшает ангиогенез, индуцированный опухолевыми клетками, проницаемость сосудов и плотность микрососудистой сети опухоли, подавляет рост опухоли и метастазов на моделях гетеротранспланта рака легкого у бестимусных мышей. Кроме того, в клетках опухоли и эндотелиальных клетках вандетаниб ингибирует тирозинкиназу рецептора эпидермального фактора роста (EGF), стимулированного EGF. Вандетаниб подавляет EGRF-зависимую пролиферацию и выживаемость клеток *in vitro*. *In vitro* исследования показали, что вандетаниб также ингибирует активность других тирозинкиназ, включая реаранжированных во время трансфекции (RET) и тирозинкиназ рецептора-3 VEGF (Flt-4). [Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата "Капрелса", таблетки, покрытые пленочной оболочкой ЛП 002238-190913, далее ИМП "Капрелса"]

Известно противоопухолевое средство из семейства ингибиторов протеинтирозинкиназ "Капрелса", выпускаемое в форме таблеток, покрытых пленочной оболочкой. Согласно ИМП "Капрелса", препарат применяется при нерезектабельном местнораспространенном или метастатическом медуллярном раке щитовидной железы.

Первая известная кристаллическая форма вандетаниба раскрыта в патентном семействе с приоритетом от 30.09.2005 по заявке GB 20050019879. Так, в российском патенте № 2448102 С2 (опубл. 20.04.2012; МПК: С07D 401/12, С07D 239/94, С07D211/16), относящемся к данному семейству, описаны способы получения вандетаниба и промежуточных соединений. Кристаллическая структура полученного соединения охарактеризована при помощи спектров порошковой рентгеновской дифракции (см. табл. 7).

Еще одна кристаллическая форма раскрывается в патенте Китая CN 106397401 В (опубл. 13.11.2018; МПК: А61Р 35/00; С07D 401/12). Описанная форма охарактеризована при помощи рентгенофазового анализа (см. табл. 7), элементного анализа, термогравиметрического анализа. Температура

плавления кристаллического вандетаниба составила 245-248°C. Для полученного соединения наблюдали стабильность при длительном хранении, хорошую растворимость в воде, а также слабую гигроскопичность.

В патентной заявке Китая CN 106619641 А (опубл. 10.05.2017; МПК: А61К 31/517; А61К 9/48; А61Р 35/00; С07D 401/12) описана кристаллическая форма вандетаниба, которая используется для получения фармацевтических композиций. В табл. 7 приведены данные порошковой рентгеновской дифракции для заявленной кристаллической формы. В вышеуказанной патентной заявке также приведены способы получения данной кристаллической формы вандетаниба.

В патентной заявке Китая CN 106588881 А (опубл. 26.04.2017; МПК: А61К 31/517; А61К 9/16; А61Р 35/00; С07D 401/12) представлены способы получения вандетаниба. Полученная заявленными способами кристаллическая форма вандетаниба охарактеризована при помощи спектров порошковой рентгеновской дифракции (табл. 7) и термогравиметрии. В патентной заявке дополнительно приведены способы получения фармацевтической композиции с использованием новой кристаллической формы.

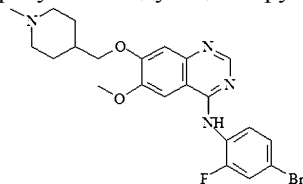
В патентной заявке Китая CN 106581002 А (опубл. 26.04.2017; МПК: А61К 31/517; А61К 47/26; А61К 9/16; А61Р 35/00; С07D 401/12) раскрывается фармацевтическая композиция, полученная на основе новой формы кристаллического вандетаниба. Данные рентгенофазового анализа представлены в табл. 7. В заявке отмечено, что данная кристаллическая форма отличается рядом улучшенных физических и технологических характеристик, таких как растворимость в воде, сыпучесть, гигроскопичность и т.д.

Заявленные технические результаты в виде увеличенной биодоступности и терапевтической эффективности не подтверждены соответствующими примерами в описании. Также следует отметить, что приведенный способ получения кристаллической формы включает использование четыреххлористого углерода, являющийся токсичным соединением. Согласно требованиям ICH (Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов, предназначенных для применения человеком) и Государственной фармакопее РФ, предельно допустимое содержание четыреххлористого углерода в фармацевтических продуктах (PDE) составляет всего 4 м.д. (0,0004%). Это делает данный растворитель практически промышленно неприменимым для последних стадий производства фармацевтических субстанций с учётом сложности его удаления из продукта и валидации аналитической методики его определения с нижним пределом количественного обнаружения аналита хотя бы в три раза ниже указанного значения. Четыреххлористый углерод также считается веществом, разрушающим озоновый слой атмосферы, а его оборот строго регулируется на территории стран, принявших Лондонскую поправку к Монреальскому протоколу по веществам, разрушающим озоновый слой.

Сущность изобретения

Заявленное изобретение относится к новой, неизвестной ранее ε-кристаллической форме N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина (международное непатентованное название - вандетаниб), способу её получения и применению в фармацевтических композициях, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний.

Соединение "вандетаниб" характеризуется следующей структурной формулой:



брутто-формулой: $C_{22}H_{24}BrFN_4O_2$;

молекулярной массой: 475,35.

Заявленное изобретение направлено на решение актуальной задачи расширения арсенала известных полиморфных форм вандетаниба, которые могут быть использованы для лечения онкологических заболеваний. Данная задача решается путем создания новой, неизвестной ранее кристаллической формы N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина (вандетаниба), названной авторами изобретения кристаллической формой ε (кристаллическая ε-модификация/форма, ε-кристаллическая модификация/форма).

Техническим результатом заявленного изобретения является создание новой кристаллической формы вандетаниба, обладающей улучшенной биологической доступностью и терапевтической эффективностью по сравнению с известной кристаллической формой, описанной, в частности, в патенте Российской Федерации № 2448102 С2, а также более высокая стабильность фармацевтической композиции, содержащей кристаллическую форму ε вандетаниба по сравнению с аналогичной композицией, содержащей кристаллическую форму вандетаниба без названия, известную из патента Китая № 106397401 В (опубл. 13.11.2018).

Кристаллическая форма ε вандетаниба по настоящему изобретению характеризуется значениями углов 2θ для основных максимумов в спектре порошковой рентгеновской дифракции при 6,90; 10,34;

16,28; 17,48; 18,36; 23,25; 25,47 $\pm 0,20^\circ$. Одинаковые условия регистрации рентгенограмм, полученных с использованием монохроматического излучения $\text{CuK}\alpha$ с длиной волны $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, позволяют сравнить эти данные с известными кристаллическими формами. По положению указанных дифракционных максимумов кристаллическая форма вандетаниба по настоящему изобретению не совпадает ни с одной из известных кристаллических форм (см. табл. 7). Следовательно, заявленная форма является новой. Качественный анализ дифрактограммы проводился в соответствии с требованиями, предусмотренными ОФС ГФ РФ "Рентгеновская порошковая дифрактометрия". Критерием сходимости углов 2θ для сравниваемых дифрактограмм являлось совпадение дифракционных максимумов в пределах $0,20^\circ$. Для определения положения дифракционных максимумов была использована компьютерная программа OriginPro 2018 SR1 версия 9.5.1.195.

Для ϵ -кристаллического вандетаниба на термограмме дифференциальной сканирующей калориметрии наблюдаются эффекты при температурах около 234°C (эндотермический) и около 242°C (экзотермический). Поскольку координаты экстремума на кривой ДСК существенно зависят от конструкции прибора и условий проведения эксперимента, во всех случаях в качестве температуры фазового перехода принималась температура начала перехода, соответствующая точке пересечения, экстраполированной в область пика базовой линии графика с касательной к точке перегиба на левом плече кривой (T_{onset}).

Кристаллическая форма s вандетаниба остается фазово-стабильной в течение как минимум 12 месяцев хранения при температуре $25\pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60\pm 5\%$ (пример 7). Данные о стабильности готового лекарственного средства на основе кристаллического вандетаниба по изобретению приведены в примере 8.

Для достоверного сравнения фармакокинетических параметров и терапевтической активности полиморфов вандетаниба была дополнительно синтезирована кристаллическая форма, описанная в патентной заявке CN 1065811002 A (пример 11). Полиморф был получен методом, приведенным в примере 1 вышеуказанной публикации, путем переосаждения и кристаллизации из насыщенного водного раствора.

С целью оценки терапевтической эффективности кристаллического вандетаниба изобретателями проведены исследования на бестимусных иммунодефицитных мышцах (пример 10). Животным вводились клетки недифференцированной карциномы щитовидной железы 8305C. Наилучший результат противоопухолевой активности наблюдался в группах 1 и 2, где лечение проводили кристаллическим вандетанибом, полученным по примерам 2 и 3а. Фармакокинетические параметры, такие как время наступления "максимальной концентрации", период полувыведения и биодоступность, сравнивались для кристаллической формы s вандетаниба по настоящему изобретению и формы, полученной по примерам 4 и 11. Биодоступность кристаллической формы s вандетаниба по настоящему изобретению оказалась достоверно выше и составила 66 и 64%, тогда как для известной формы по примеру 4 этот параметр был 55%, по примеру 11 - 50% (пример 9).

В первоначальном варианте способа получения кристаллической формы ϵ сырьевой вандетаниб растворяли в горячем этаноле, после чего высаживали водой. Образовавшуюся суспензию фильтровали, промывали водой, влажный осадок с фильтра замораживали жидким азотом, подвергали сублимационной сушке, после чего полученный лиофилизат запекали в течение примерно 40 ч при температуре около $70\pm 2^\circ\text{C}$.

В усовершенствованном варианте способа получения ϵ -кристаллической формы по настоящему изобретению сырьевой вандетаниб перекристаллизовывали из подходящего низкотоксичного растворителя или смеси растворителей с использованием некоторого количества ϵ -кристаллической формы вандетаниба в качестве затравки. При этом сырьевой вандетаниб может быть получен химическим синтезом с использованием реакции восстановительного метилирования N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-((пиперидин-4-ил)метокси)хиназолин-4-амин под действием формальдегида и триацетоксиборгидрида натрия в смеси уксусной кислоты, хлористого метилена и этанола (см. пример 1). Кристаллизация полученного вандетаниба в форму ϵ позволяет уменьшить содержание остаточных органических растворителей ниже регламентируемых пределов.

Перечень фигур, чертежей и иных материалов

Для пояснения сущности заявляемого технического решения к описанию приложены фиг. 1-6.

На фиг. 1 приведена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии кристаллической формы ϵ вандетаниба по примеру 2.

На фиг. 2 приведена порошковая дифрактограмма кристаллической формы ϵ вандетаниба, полученного по примеру 2.

На фиг. 3 приведена порошковая дифрактограмма известной кристаллической формы вандетаниба, полученной по примеру 4.

На фиг. 4 приведен ^1H ЯМР спектр вандетаниба, синтезированного по примеру 1, зарегистрированный на частоте 600 МГц в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-d_6).

На фиг. 5 приведен ^{13}C ЯМР спектр кристаллической формы ϵ вандетаниба, полученной по примеру 2, зарегистрированный на частоте 600 МГц в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-d_6).

На фиг. 6 приведен график сравнения терапевтической эффективности кристаллического вандетаниба. Группа 1 - введение кристаллической формы ϵ вандетаниба, полученного по примеру 2, группа 2 - введение кристаллической формы ϵ вандетаниба, полученного по примеру 3а, группа 3 - введение кристаллического вандетаниба, полученного по примеру 4, группа 4 - введение кристаллического вандетаниба, полученного по примеру 11, группа 5 (контроль) - не получала лечения.

Сведения, подтверждающие сущность изобретения

Физико-химический анализ кристаллического вандетаниба был осуществлен методом ядерной магнитной спектроскопии ^1H и ^{13}C ЯМР, ВЭЖХ, ГЖХ и рентгенофазовым анализом (РФА). Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР были зарегистрированы в насыщенном растворе в дейтерированном диметилсульфоксиде (DMSO-d_6) на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Bruker AVANCE 600 на рабочей частоте 600 МГц.

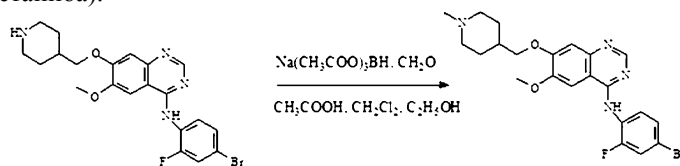
РФА проводили на дифрактометре Rigaku D/MAX-2500 (Rigaku, Япония) в $\text{CuK}\alpha$ излучении ($\lambda=1,54056 \text{ \AA}$).

Содержание воды анализировалось на автоматическом титраторе C20D, Mettler Toledo (Швейцария).

Термоаналитические исследования проводили на приборе NETZSCH DSC 204 F1. Измерительную систему калибровали согласно норме ISO 11357-1 по параметрам фазовых переходов стандартных веществ (C_6H_{12} , Hg, бензойная кислота, Ga, KNO_3 , In, Sn, Bi, CsCl, чистота 99,99%). Систематическая ошибка температурной калибровки (определена по In) составляет $0,1^\circ$. Образцы тестировали в стандартных алюминиевых ячейках ($V=56 \text{ мм}^3$, $d=6 \text{ мм}$), завальцованных крышкой с отверстием (отношение площади дна ячейки к площади отверстия составляло порядка 40) в потоке (40 мл/мин) азота (ВЧ) при скорости нагревания $10^\circ/\text{мин}$.

Возможность осуществления заявленного изобретения иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается только ими.

Пример 1. Синтез N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина (вандетаниба).



Смешали 10,0 г N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-((пиперидин-4-ил)метокси)хиназолин-4-амина с 4,2 мл водного формальдегида (37 мас.%) в 200 мл смеси хлористого метилена и этанола (3:1 v/v), добавили 13,7 г триацетоксиборгидрида натрия, прикапали 3,7 мл ледяной уксусной кислоты. Полученную смесь перемешали в течение 24 ч в атмосфере азота. Затем в реакционную массу добавили 300 мл 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия и перемешали в течение 1 ч. Органический слой отделили, растворитель удалили в вакууме. Полученный осадок промыли на фильтре Шотта (S3) водой $3 \times 200 \text{ мл}$ и высушили в вакууме до постоянной массы. Получили 8,5 г (выход 83%) вандетаниба. Структура полученного соединения подтверждена при помощи ^1H ЯМР спектроскопии (фиг. 4).

Пример 2. Получение ϵ -кристаллического N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил) метокси]-4-хиназолинамина.

0,5 г N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина (производства Hangzhou Hyper Chemicals Limited, Китай) растворили при нагревании до примерно 55°C в 100 мл 95%-ного этанола и вылили в 400 мл очищенной воды. Образовавшуюся тонкую суспензию центрифугировали при 1000g в течение примерно 10-20 мин, супернатант отделили, а влажный осадок перенесли в ёмкость из нержавеющей стали, которую погружали в жидкий азот при температуре примерно -196°C . Полученный замороженный продукт перенесли в сублимационную камеру и подвергли сублимационной сушке в течение примерно 22 ч при температурах на конденсаторе от примерно -50 до примерно -56°C , на продукте от примерно -196 до примерно 30°C и остаточном давлении в камере от 8×10^{-2} до $5 \times 10^{-2} \text{ мм рт. ст.}$ Далее полученный лиофилизат поместили в разогретый до $70 \pm 2^\circ\text{C}$ сушильный шкаф и выдержали при этой температуре в течение около 40 ч. Получили 0,49 г (выход 98%) ϵ -кристаллического вандетаниба в виде лёгкого мелкокристаллического порошка. Структура полученного соединения была подтверждена данными ^{13}C ЯМР спектроскопии (фиг. 5).

Пример 3а. Получение ϵ -кристаллического вандетаниба.

10,0 г сырьевого вандетаниба (производства Hangzhou Hyper Chemicals Limited, Китай) растворили в этаноле при температуре кипения. Горячий раствор охладил до примерно 35°C со скоростью около $1^\circ/\text{мин}$ при перемешивании и вносили затравку кристаллической формы ϵ вандетаниба, синтезированной по примеру 2. Охлаждение продолжили с той же скоростью до температуры около 0°C , затем перемешали примерно при 0°C в течение около 4 ч. Образовавшийся осадок отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли охлажденным этанолом ($3 \times 10 \text{ мл}$) и высушили под вакуумом при температуре около 40°C до постоянной массы. Получили 9,74 г (выход 97%). Характерные пики на дифрактограмме про-

дукта совпали с дифрактограммой кристаллической формы ϵ вандетаниба по примеру 2 с точностью $\pm 1^\circ$ угла 2θ .

Пример 3b. Получение ϵ -кристаллического вандетаниба (масштабирование).

Кристаллический вандетаниб получили по способу, описанному в примере 3a, с использованием 100 г сырьевого вандетаниба (синтезированного по примеру 1). Получили 96,4 г кристаллического вандетаниба (выход 96%). Характерные пики на дифрактограмме продукта совпали с дифрактограммой кристаллической формы ϵ вандетаниба по примеру 2 с точностью $\pm 1^\circ$ угла 2θ .

Пример 3c. Получение кристаллической формы ϵ вандетаниба.

10,0 г сырьевого вандетаниба (синтезированного по примеру 1) растворили в смеси изопропанол-этилацетат (1:1 v/v) при температуре кипения. Горячий раствор охладили до примерно 40°C со скоростью примерно 1 град/мин при перемешивании и вносили затравку кристаллической формы ϵ вандетаниба, синтезированной по примеру 2.

Охлаждение продолжили с той же скоростью до температуры около 0°C , затем перемешали при 0°C в течение примерно 4 ч. Образовавшийся осадок отфильтровали на пористом фильтре Шотта (S3), промыли 3×20 мл охлажденным этанолом и высушили под вакуумом при температуре около 40°C до постоянной массы. Получили 9,69 г (выход 97%). Характерные пики на дифрактограмме продукта совпадали с дифрактограммой ϵ -кристаллического вандетаниба по примеру 2 с точностью $\pm 1^\circ$ угла 2θ .

Пример 4. Получение кристаллического вандетаниба известным способом (патент РФ № 2448102 С2, пример 15).

10,0 г 7-(1-трет-бутоксикарбонил)пиперидин-4-илметокси)-4-(4-бром-2-фторанилино)-6-метоксихиназолина, 4,5 мл воды, 12,0 мл муравьиной кислоты и 12,1 мл водного формальдегида (37 мас.%) загрузили в сосуд, оборудованный мешалкой и дефлегматором в атмосфере азота. Реакционную смесь нагрели до 80°C в течение 90 мин и перемешали при этой температуре в течение 5 ч. После этого реакционную смесь охладили до 60°C и добавили 80 мл метанола, затем добавили 23 мл водного раствора гидроксида калия (49 мас.%) в течение 2 ч. Взвесь охладили до 20°C в течение 2 ч, затем продукт выделили путем фильтрации. Продукт два раза промыли водным метанолом (метанол-вода 2:1 v/v, объём 300 мл) и высушили при 50°C в вакууме до постоянной массы. Получили 8,0 г (выход 94%). Структура полученного соединения была подтверждена при помощи ^1H ЯМР спектроскопии, рентгенофазового анализа (фиг. 3). Спектр порошковой рентгеновской дифракции совпадал со спектром порошковой рентгеновской дифракции кристаллического вандетаниба, приведенного на фиг. 1 в патенте RU 2448102 С2.

Пример 5. Определение остаточных органических растворителей в образцах кристаллического вандетаниба.

Для кристаллического вандетаниба по изобретению остаточные органические растворители определяли методом газовой хроматографии в соответствии с ГФ РФ (ОФС.1.1.0008.15 "Остаточные органические растворители", ОФС.1.2.1.2.0004.15 "Газовая хроматография", ОФС.1.2.1.2.0001.15 "Хроматография") на газовом хроматографе с программированием температуры, снабженном пламенно-ионизационным детектором GC-2010 Plus, Shimadzu (Япония) и автоматическим устройством для анализа равновесной паровой фазы типа "Headspace", АОС-5000 Plus, Shimadzu (Швейцария).

Таблица 1

Данные об остаточных органических растворителях в образцах кристаллического вандетаниба

	ϵ -Кристаллический по примеру 2	ϵ -Кристаллический по примеру 3a	ϵ -Кристаллический по примеру 3c	Кристаллический по примеру 4	Предельное содержание с учётом требований ГФ РФ XIII
Ацетонитрил	0,008	Не обнаружен	Не обнаружен	0,006	0,041%
Хлористый метилен	0,03	0,02	0,02	Не обнаружен	0,06%
Этилацетат	Не обнаружен	Не обнаружен	0,13	0,21	0,5%
Этанол	0,2	0,2	0,1	Не обнаружен	0,5%
2-пропанол	Не обнаружен	Не обнаружен	0,2	0,3	0,5%
ДМФА	Не обнаружен	Не обнаружен	Не обнаружен	0,01	0,088%

Пример 6. Получение готового лекарственного средства в форме таблеток, покрытых оболочкой, содержащих вандетаниб, 300 мг.

Отвешивали на весах и развешивали в индивидуальные маркированные пакеты:

кристаллический вандетаниб, полученный по примерам 2, 3а, 4 или примеру 1 патента Китая № 106397401 В - 2000 г;

кальция гидрофосфата дигидрат (JRS PHARMA GmbH & Co) - 1950 г;

целлюлоза микрокристаллическая (VIVAPUR 101, JRS PHARMA, Германия) - 350 г;

кросповидон (Polyplasdone® XL, ISP) -250 г;

повидон (I S P Technologies, США) - 100 г;

магния стеарат (NutriMag STv, CALMAGS GmbH, Германия) - 50 г.

Состав оболочки: гипромеллоза 2910, макрогол 300, титана диоксид.

Кристаллический вандетаниб, кальция гидрофосфата дигидрат, микрокристаллическую целлюлозу, кросповидон, повидон загружали в смеситель-гранулятор и перемешивали в течение 5 мин со скоростью 20 об/мин. К порошковой смеси добавляли очищенную воду (от 35 до 45 мас.%) и перемешивали 6-8 мин. Влажные гранулы пропускали через соответствующее сито для измельчения крупных кусков влажной массы. Полученные гранулы высушивали и сухой порошок измельчали. К смеси добавляли магния стеарат и дополнительно перемешивали в течение 20 мин. Гранулы прессовали в таблеточном прессе до получения требуемой массы ядра 750 мг. Суспензию для покрытия таблеток оболочкой готовили из следующих компонентов - гипромеллоза 2910, макрогол 300, очищенная вода, диоксид титана. Покрытие таблеток-ядер пленочной оболочкой вели в установке для тонкослойного покрытия. Процесс нанесения суспензии продолжали до тех пор, пока не была достигнута требуемая средняя масса таблетки.

Пример 7. Исследование стабильности образцов кристаллического вандетаниба.

Стабильность образцов ϵ -кристаллического вандетаниба, полученных по примерам 2, 3а, 3б, а также известной кристаллической формы вандетаниба, синтезированного, по примеру 4 была подтверждена отсутствием смещения за пределами доверительного интервала $\pm 0,20^\circ$ угла 2θ характерных пиков, характеризующих ϵ -модификацию или возникновения дополнительных пиков в спектре порошковой рентгеновской дифракции после 12 месяцев хранения при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $60 \pm 5\%$.

Пример 8. Исследование стабильности лекарственного препарата, содержащего кристаллический вандетаниб в дозе 300 мг.

Ускоренные испытания стабильности препарата 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 в течение 24 месяцев.

Таблица 2

Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 300 мг кристаллической формы ϵ вандетаниба по примеру 2

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 75% вандетаниба должно высвободиться в среду растворения через 45 минут	94,10	93,05	92,66	91,97	90,85
Сумма примесей	Не более 0,4%	0,05	0,07	0,10	0,24	0,36
Количественное определение	Содержание вандетаниба должно быть от 90,0% до 110%	100,98	100,78	100,58	100,41	100,25

Таблица 3

Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 300 мг кристаллического вандетаниба по примеру 3а

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 75% вандетаниба должно высвободиться в среду растворения через 45 минут	98,74	97,98	97,01	96,24	95,36
Сумма примесей	Не более 0,4%	0,19	0,24	0,26	0,30	0,34
Количественное определение	Содержание вандетаниба должно быть от 90,0% до 110%	100,23	100,24	99,67	98,99	98,02

Таблица 4

Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 300 мг кристаллического вандетаниба по примеру 4.

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 75% вандетаниба должно высвободиться в среду растворения через 45 минут	95,21	95,04	94,31	93,21	92,87
Сумма примесей	Не более 0,4%	0,24	0,29	0,34	0,37	0,38
Количественное определение	Содержание вандетаниба должно быть от 90,0% до 110%	101,52	101,47	100,46	100,14	99,67

Таблица 5

Данные о стабильности лекарственного препарата, содержащего 300 мг кристаллического вандетаниба, известного из CN 106397401 В, пример 1

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 75% вандетаниба должно высвободиться в среду растворения через 45 минут	96,02	94,33	92,91	91,51	90,79
Сумма примесей	Не более 0,4%	0,35	0,70	0,95	1,35	1,86
Количественное определение	Содержание вандетаниба должно быть от 90,0% до 110%	99,69	99,37	99,06	98,80	98,64

Пример 9. Исследование фармакокинетики кристаллических форм вандетаниба in vivo.

Крысы самцы линии Спрег-Дуули массой 200-220 г в возрасте 9-10 недель содержались в стандартных лабораторных условиях при температуре 22-24°C и влажности 45±5%. Животные имели свободный доступ к еде и воде.

Особи были разделены на 4 группы, по 12 штук в каждой. Первой группе вводился кристаллический вандетаниб по примеру 2, второй группе - кристаллический вандетаниб по примеру 3а, третьей - кристаллический вандетаниб по примеру 4, четвертой - кристаллический вандетаниб по примеру 11. Субстанция вводилась через желудочно-кишечный зонд однократно в дозировке 10 мг/кг в виде водной суспензии с добавлением 1% полисорбата-80. Для исследования биодоступности вандетаниб вводился однократно в виде водного раствора в дозировке 7,5 мг/кг.

Образцы крови объемом 200 мкл отбирались из хвостовой вены через 0; 0,0083 (для внутривенного введения), 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 вандетаниба.

Фармакокинетические параметры, полученные при внутривенном введении:

$AUC_{0 \rightarrow \infty} = 7082$ нг·ч/мл; $t_{1/2} = 27,5$ ч.

Таблица 6

Данные о фармакокинетике кристаллического вандетаниба in vivo на крысах-самцах линии Спрег-Доули

Параметр	Кристаллический вандетаниб по примеру 2	Кристаллический вандетаниб по примеру 3а	Известный кристаллический вандетаниб по примеру 4	Известный кристаллический вандетаниб по примеру 11
C_{max} , нг/мл	387	409	302	301
AUC, нг×ч/мл	6232	6043	5193	4721
t_{max} , ч	3,9	3,8	2,8	2,5
$t_{1/2}$, ч	25,2	25,0	23,7	22,4
F^* , %	66	64	55	50

*Различия можно считать статистически достоверными ($p \leq 0,05$).

Биодоступность рассчитывали по формуле

$$F = \left(\frac{AUC_x \times D_{ВВ}}{AUC_{ВВ} \times D_x} \right) \times 100 \%,$$

где AUC_x - площадь под кривой "концентрация - время" после перорального введения;

$AUC_{ВВ}$ - площадь под кривой концентрация - время после внутривенного введения;

D_x - дозировка препарата для перорального введения;

$D_{ВВ}$ - дозировка препарата для внутривенного введения.

Пример 10. Исследование терапевтической эффективности кристаллического вандетаниба in vivo.

Для исследования терапевтической противоопухолевой эффективности использовали голых иммунодефицитных бестимусных мышей в возрасте 6-7 недель весом 20-25 г. Животных содержали в стандартных лабораторных условиях при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности $45 \pm 5\%$.

Клетки недифференцированной карциномы щитовидной железы 8305С вводились подкожно в количестве 2×10^6 клеток. Размер опухоли измерялся дважды в неделю при помощи штангенциркуля. Объем опухоли рассчитывался по формуле $(L \times D^2)/2$, где L - наибольший размер опухоли в мм, D - наименьший размер опухоли в мм.

Через 30 дней после введения клеток, когда опухоль достигала объема 100 мм^3 , начинали лечение животных. Особи были разделены на 5 групп, по 12 штук в каждой. Первая группа получала лечение кристаллическим вандетанибом по примеру 2; вторая группа - кристаллическим вандетанибом по примеру 3а; третья группа - кристаллическим вандетанибом по примеру 4; четвертая группа - известным кристаллическим вандетанибом по примеру 11; пятая группа, контроль, получала водный раствор с добавлением 1% полисорбата-80 без активной субстанции.

Субстанция вводилась в виде водной суспензии с добавлением 1% стерильного полисорбата-80. Кристаллический вандетаниб вводился перорально через желудочно-кишечный зонд в дозировке 25 мг/кг/день в течение 29 дней. После лечения наблюдение за животными продолжали до 7 недель (на графике указано до 35 дня после введения клеток). Потеря в массе наблюдалась незначительной. Животные из контрольной группы были умерщвлены после 29 дней лечения.

Наибольшее подавление опухолевого роста наблюдалось в группах 1 и 2, где лечение проводилось кристаллическим вандетанибом по примерам 2 и 3а. На конец периода лечения в контрольной группе средний объем опухоли составил 1550 мм^3 . В 1, 2, 3, 4 группах средний объем опухоли после лечения составил 186 мм^3 ; 191 мм^3 ; 390 мм^3 ; 360 мм^3 соответственно. Результаты эксперимента приведены на фиг. 6.

Пример 11. Получение кристаллического вандетаниба известным способом (патентная заявка CN 1065811002 А, пример 1).

0,5 г сырьевого вандетаниба растворили в деионизированной воде при температуре 55°C до получения насыщенного раствора, затем при перемешивании добавили смесь растворителей этилацетат : четыреххлористый углерод (2:1 v/v). Полученную смесь охладили со скоростью 7-9 град/ч. Добавили охлажденный ацетон объемом в 4 раза больше, чем объем смеси этилацетата и четыреххлористого углерода, и продолжили охлаждение до 0°C . Перемешивание прекратили и оставили кристаллизоваться при 0°C в течение 2 ч. Осадок фильтровали на мелкопористом фильтре и высушивали в вакууме при температуре 45°C . Получили 0,48 г (выход 96%) кристаллического вандетаниба. Спектр порошковой рентгеновской

дифракции совпадал со спектром, приведенным в патентной заявке.

Таблица 7

Данные порошковой рентгеновской дифракции для известных кристаллических форм вандетаниба с использованием монокроматического $\text{CuK}\alpha$ -излучения с длиной волны $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$

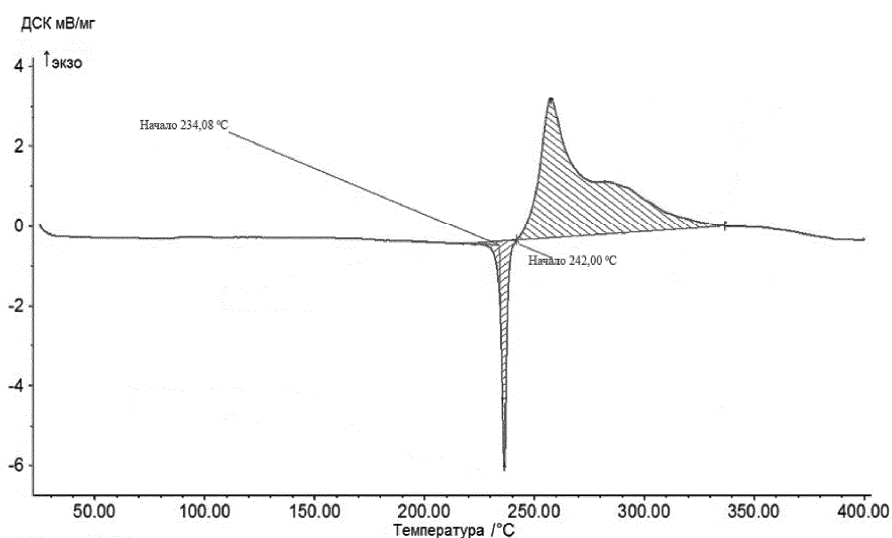
RU2448102 C2 (без названия)	CN106397401 B (без названия)	CN106619641 A (без названия)	CN106581002 A (без названия)	CN106588881 A (без названия)
15,0	3,26	13,1	3,3	4,9
21,4	4,13	15,4	7,5	10,4
23,3	6,22	17,5	8,3	13,2
20,7	6,91	19,2	10,7	15,0
18,9	9,53	31,2	20,2	20,6
18,1	14,19	31,6	20,9	20,9
23,7	17,45	33,8	23,5	27,5
8,3	22,39	35,4	29,0	29,1
22,1	24,52	39,2	30,4	31,0
29,5	31,17	41,3	32,8	31,8
	33,92	44,7		
	36,37	46,2		
	37,65	49,1		
	39,58			

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

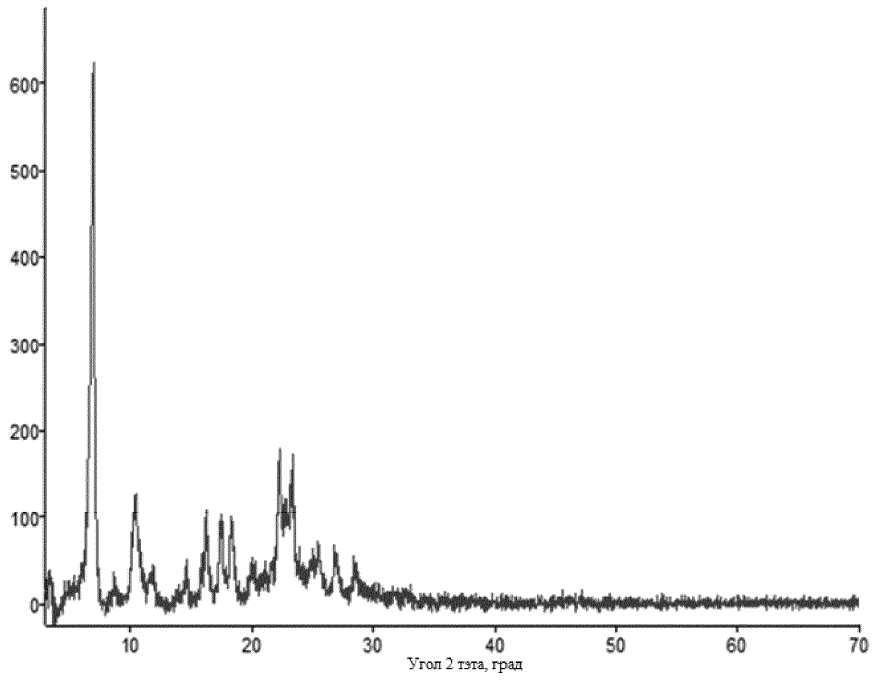
1. Способ получения кристаллического N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина, включающий следующие стадии:

- приготовление раствора сырьевого N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина в 95% водном этаноле;
- смешивание полученного раствора с водой с образованием суспензии;
- выделение осадка продукта и замораживание его жидким азотом;
- сублимационная сушка замороженного осадка при температурах на конденсаторе от 50 до -56°C , на продукте от -196 до 30°C и остаточном давлении в камере от 8×10^{-2} до 5×10^{-2} мм рт. ст.;
- запекание полученного лиофилизата при температуре $70 \pm 2^\circ\text{C}$.

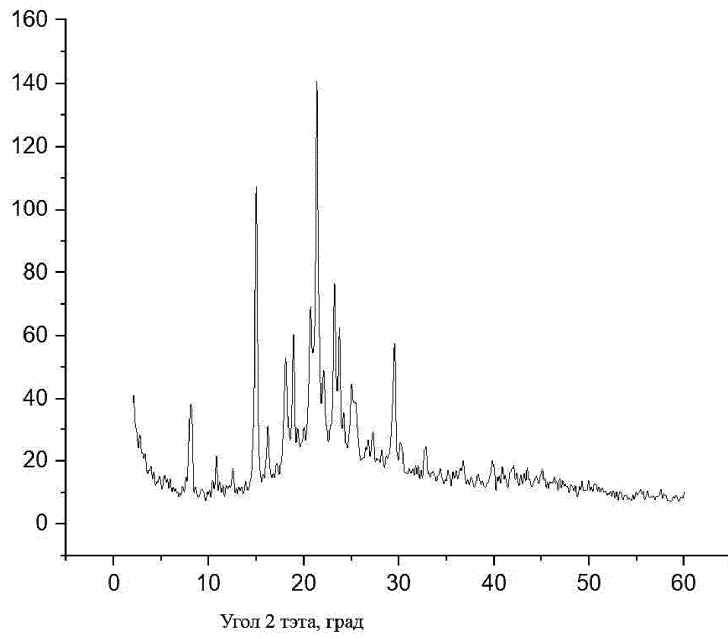
2. Способ получения кристаллического N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинамина, заключающийся в том, что сырьевой N-(4-бром-2-фторфенил)-6-метокси-7-[(1-метил-4-пиперидинил)метокси]-4-хиназолинин подвергают кристаллизации из подходящего растворителя или смеси растворителей с использованием затравки вещества, полученного способом по п. 1.



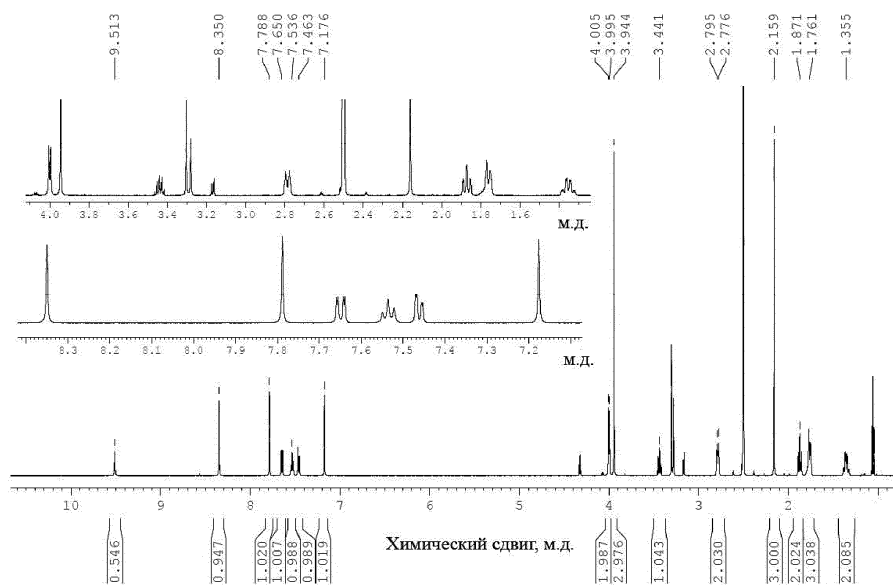
Фиг. 1



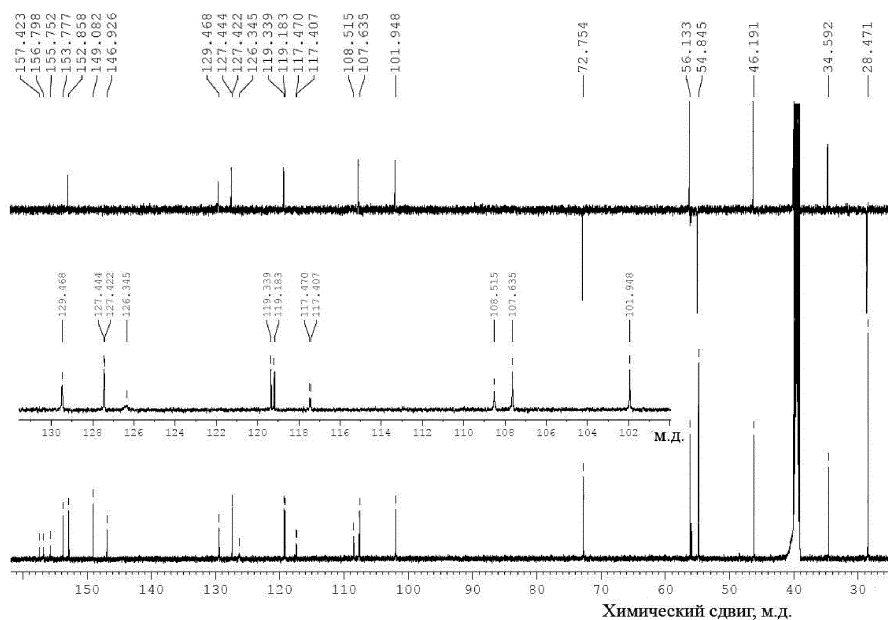
Фиг. 2



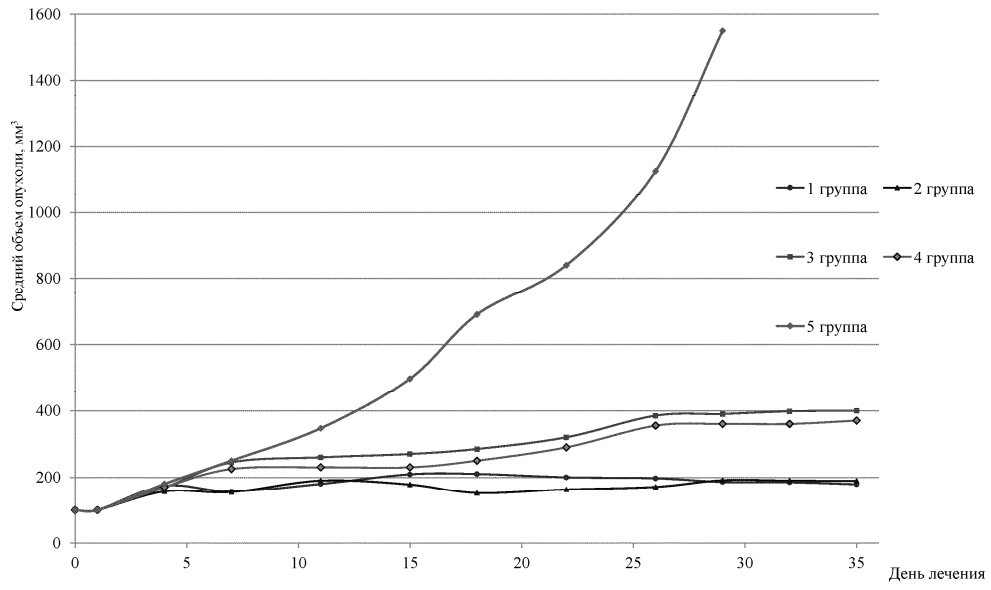
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

