

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
26 октября 2023 (26.10.2023)



(10) Номер международной публикации
WO 2023/204729 A1

(51) Международная патентная классификация:

A61K 31/415 (2006.01) A61P 31/16 (2006.01)
C07D 233/64 (2006.01) A61P 11/04 (2006.01)

(21) Номер международной заявки: РСТ/RU2023/000038

(22) Дата международной подачи:

17 февраля 2023 (17.02.2023)

(25) Язык подачи:

Русский

(26) Язык публикации:

Русский

(30) Данные о приоритете:

2022110561 19 апреля 2022 (19.04.2022) RU

(71) Заявитель: **ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ГЕЛЕСПОН"** (OBSHCHESTVO S OGRANICHENNOY

OTVETSTVENNOSTIYU "GELESPON") [RU/RU];
тер. Сколково инновационного центра, б-р Большой, д. 42, стр. 1, эт. 4, пом. 137, раб. место 12, вн. тер. г. муниципальный округ Можайский, Москва, 121205, Moscow (RU).

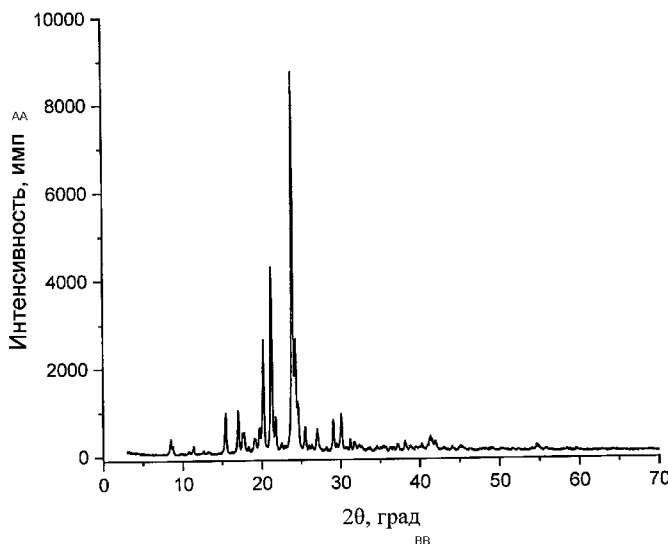
(72) Изобретатель: **ФАЗЫЛОВ, Марат Феликсович (FAZYLOV, Marat Felixovich)**; ул. Лесная, д. 15, кв. 19, г. Красногорск, Московская обл., 143403, Moskovskaya obl., g. Krasnogorsk (RU).

(74) Агент: **КАЛИГАНОВА, Александра Игоревна (KALIGANOVA, Alexandra Igorevna)**; А.И. Калигановой, ул. Декабристов, д. 26, кв. 69, Москва, 127273, Moscow (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): АЕ, АГ, АЛ, АМ,

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS BASED ON A NOVEL SUBSTANCE OF 4-[2-(1H-IMIDAZOL-4-YL)-ETHYL-CARBAMOYL]-BUTANOIC ACID AND METHOD FOR PRODUCING SAID SUBSTANCE

(54) Название изобретения: ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ НОВОЙ СУБСТАНЦИИ 4-[2-(1H-ИМИДАЗОЛ-4-ИЛ)-ЭТИЛКАРБАМОИЛ]-БУТАНОВОЙ КИСЛОТЫ И СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ



AA Intensity (cps)
BB 2θ (degrees)

Фиг. 1

(57) Abstract: The invention relates to pharmaceutical chemistry and the chemical and pharmaceutical industry and concerns pharmaceutical compositions based on the substance 4-[2-(1H-imidazol-4-yl)-ethylcarbamoyl]-butanoic acid in a novel crystalline form, which exhibit an antiviral, anti-inflammatory and immunomodulatory effect, as well as a method for producing said substance with storage stability.

(57) Реферат: Изобретение относится к фармацевтической химии и химико-фармацевтической промышленности, касается



WO 2023/204729 A1

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

фармацевтических композиций на основе субстанции 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде новой кристаллической формы, проявляющих противовирусное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие, а также способа получения субстанции, стабильной при хранении.

Фармацевтические композиции на основе новой субстанции 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты и способ получения субстанции

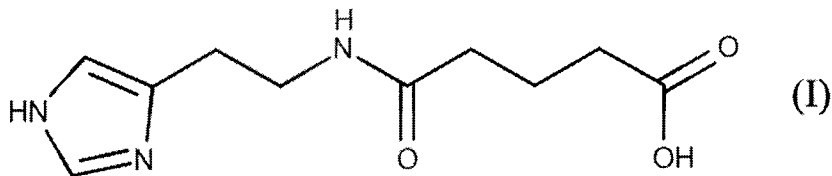
5

Область техники

Изобретение относится к фармацевтической химии и химико-фармацевтической промышленности, касается субстанции 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде новой кристаллической формы, способа ее получения, фармацевтических композиций на её основе, их применения в качестве противовирусного, противовоспалительного и иммуномодулирующего средства.

Предшествующий уровень техники

4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановая кислота имеет структурную формулу (I) и применяется для противовирусной профилактики и терапии.



Механизм действия 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты связан со стимуляцией факторов врожденного иммунитета, которые подавляются вирусами. Она повышает экспрессию рецептора интерферона первого типа IFNAR на поверхности эпителиальных и иммунокомпетентных клеток, что приводит к увеличению плотности интерфероновых рецепторов и к повышению чувствительности клеток к сигналам эндогенного интерферона. 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановая кислота стимулирует выработку противовирусного эффекторного белка MxA, ингибирующего внутриклеточный транспорт рибонуклеопротеидов различных вирусов, замедляя процесс вирусной

репликации. Она стимулирует и нормализует сниженную α -интерферон продуцирующую способность лейкоцитов крови, стимулирует γ -интерферон продуцирующую способность лейкоцитов. Вызывает генерацию цитотоксических лимфоцитов и повышает содержание NK-Т
5 клеток, обладающих высокой активностью по отношению к зараженным вирусами клеткам. Противовоспалительное действие обусловлено подавлением продукции ключевых провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли (TNF- α), интерлейкинов (IL-1 β и IL-6)), снижением активности миелопероксидазы (V.V. Zarubaev, A.V. Garshinina, N.A. Kalinina
10 wt al. Activity of Ingavirin (6-[2-(1H-Imidazol-4-yl)ethylamino]-5-oxohexanoic Acid) Against Human Respiratory Viruses in in Vivo Experiments Pharmaceuticals 2011, 4, 1518-1534; doi:10.3390/ph4121518).

Полиморфизм — способность вещества существовать в различных кристаллических формах при одинаковом химическом составе. Такие
15 формы называются полиморфными модификациями. Полиморфные модификации проявляют различные физические и физико-химические свойства, такие как температура плавления, размер кристаллов, плотность, растворимость и скорость растворения, удельная теплоёмкость, электропроводность, угол смачивания, показатель преломления,
20 коэффициент рассеяния света, ИК-спектры, КР-спектры, термограммы, рентгеновские дифрактограммы и др. (Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Общая фармакопейная статья.1.1.0017.15. Полиморфизм. С. 393-396).

Полиморфизм лекарственных веществ имеет большое значение для
25 химико-фармацевтической промышленности, поскольку различие в физико-химических свойствах может влиять на терапевтическую эффективность препаратов. (Смирнова И. Г., Гильдеева Г. Н., Чистяков В. В. Анализ кристаллической и пространственной структуры лекарственных веществ //Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2012. – Т. 53. – №.
30 4. С. 234-240).

Получение более стабильных кристаллических форм лекарственных веществ, обладающих улучшенными технологическими, физико-

химическими и биофармацевтическими характеристиками, которые могут приводить к увеличению эффективности и срока годности препаратов является важной задачей для фармацевтической промышленности и медицины.

5 Из уровня техники следует, что исследователями предпринимались попытки создания стабильных субстанций в виде кристаллических форм 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты для использования в фармацевтических противовирусных препаратах.

Из патента CN 105418512 В известен способ получения кристаллической формы ингавирина путем его растворения в высокополярном растворителе таком как метанол и этанол в смеси с органическим основанием, которое выбирают из триэтиламина и N,N-диизопропилэтиламина, затем встряхивают с низкополярным растворителем и герметизируют для образования монокристаллов в течение 2-10 дней.

15 Субстанции используют для получения противогриппозных препаратов в виде таблеток и капсул. Данный способ является достаточно трудоемким и дорогостоящим.

В качестве ближайшего аналога может быть указана патентная публикация CN103382179 А. Из источника для 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты известны две полиморфные формы-формы А и В.

20

Кристаллическая форма А из CN103382179А характеризуется рентгеновской дифракционной диаграммой, полученную при Cu-K α со следующими углами 2 θ : 16,25388; 17,55537; 18,19366; 18,74863; 19,78359; 20,20446; 22,27632; 24,14684; 24,38282; 24,93973; 25,34327; 26,41213; 26,93823; 27,06627; 28,01838; 28,62621; 28,94396; 29,92034; 32,30439; 33,21582; 34,69475; 37,98252; 38,51969; 39,85372; 42,54231. Форма А из CN103382179А имеет в ИК-спектре характеристичные пики при 3163, 3100, 3007, 2868, 2005, 1463, 1269, 1200, 1138 и 948 см⁻¹.

25

30 Кристаллическую форма А из CN103382179А получают следующим способом: растворяют 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановую кислоту в растворителе при температуре от -40 до -180°C при соотношении

1 г вещества к 1-50 мл растворителя, при температуре от -40 до -50°C охлажденная 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановая кислота отделяется, фильтруется и сушится при температуре 30-100°C.

5 Более подробно в примере 1 CN103382179A кристаллическая форма А получается растворением 2 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 14 мл воды, добавлением 60 мл ацетона, отделением опалесцирующего осадка, перемешиванием 2 ч на ледяной бане, фильтрованием образующегося осадка и его промывке ацетоном 2 раза. Выход формы А – 1,4 г (70%).

10 Более подробно в примере 2 CN103382179A кристаллическая форма А получается растворением 3 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 50 мл метилового спирта, при перемешивании добавлении по каплям 25 мл триэтиламина, медленном добавлении 360 мл этилацетата, охлаждением до 0°C, перемешиванием в течение 2 ч, 15 фильтрованием образующегося осадка, промывкой осадка на фильтре 100 мл этилацетатом, сушкой при пониженном давлении. Выход формы А – 1,94 г (64,7%).

Кристаллическая форма В из CN103382179A характеризуется рентгеновской дифракционной диаграммой, полученную при Cu-K α со 20 следующими углами 2 θ : 15.48400; 17.03720; 17.64442; 17.83801; 19.08664; 20.24814; 21.25388; 21.83913; 23.93256; 24.27171; 25.48872; 26.98308; 29.09590; 30.12190; 41.31897. Форма В из CN103382179A имеет в ИК-спектре характеристичные пики при 3066, 2971, 2932, 2857, 2802, 2005, 1777, 1300, 1234, 1216, 1196, 1129, 1086, 1051, 1033, 933, 811, 740 и 588 см⁻¹.

25 Кристаллическую форму В из CN103382179A получают следующим способом: растворяют 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановую кислоту в растворителе при температуре от -40 до -180°C при соотношении 1 г вещества к 1-50 мл растворителя, при температуре от -40 до -50°C охлажденная 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановая кислота 30 отделяется, фильтруется и сушится при температуре 30-100°C.

Более подробно в примере 3 CN103382179A кристаллическая форма В получается растворением 2 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-

бутановой кислоты в 28 мл смеси вода:этанол = 1:1, перемешивании при комнатной температуре в течении 24 ч, фильтровании образующегося осадка и его промывкой этанолом 2 раза. Выход формы В – 1,2 г (60%).

5 Более подробно в примере 4 CN103382179А кристаллическая форма В получается растворением 2 г 4-[2-(1Н-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в смеси метилизобутилкетон/диметилсульфоксид, перемешивании при комнатной температуре в течении 24 ч, фильтровании образующегося осадка и его промывкой метилизобутилкетон 2 раза. Выход формы В – 1,5 г (75%).

10 Формы А и В из CN103382179А тестировали на стабильность в течение 10 дней при температуре 60°C, влажности 92,5% и она была выше, чем у коммерчески доступного продукта.

Данные формы А и В 4-[2-(1Н-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты из CN103382179А и способы их получения имеют ряд
15 существенных недостатков:

- 1) Общее описание способов получения каждой из форм А и В, представленного в формуле изобретения, является полностью идентичным. Следовательно, из идентичных способов получения не может следовать образование разных форм А и В 4-[2-(1Н-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.
20
- 2) Описание способов получения форм А и В примерах не соответствует общему описанию способов, приведенных в формуле изобретения.
- 3) Общий способ получения форм А и В, представленный в формуле, проводится при очень низких температурах и требует
25 специализированного оборудования и расхода охлаждающих агентов.
- 4) Низкий выход продуктов, не превышающий 70% для формы А и 75% для формы В.
- 5) Проведенное тестирование стабильности в течение 10 дней при 60°C и влажности 92,5% недостаточно для подтверждения срока годности
30 препарата хотя бы в течение 1 года.

Раскрытие изобретения

Задачей настоящего изобретения является преодоление этих недостатков и получение новой кристаллической формы 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты (авторы обозначили как форма I) простым и более эффективным способом получения, которая технологически более пригодна для получения твердых и жидких дозированных форм на ее основе, обладающей противовирусной активностью, продленным сроком хранения не менее 4 лет.

Указанная задача решается за счет субстанции I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде ее новой кристаллической формы, а также способа ее получения.

Техническим результатом изобретения являются: получение более доступным и дешевым способом с высоким выходом субстанции 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде новой кристаллической формы I, с улучшенными технологическими свойствами для производства твердых и жидких лекарственных форм на ее основе, которая обладает противовирусной активностью, увеличенная стабильность составов фармацевтических композиций на основе формы I, и вследствие этого увеличенный срок годности более 5 лет. Дополнительным техническим результатом является возможность идентификации содержания формы I в твердых лекарственных формах, вне зависимости от ее вида, и соответственно возможность идентификации стабильности при хранении.

Заявляемая кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты имеет характеристичный набор максимумов и их интенсивностей на дифрактограмме (Фиг. 1,2). Форма I характеризуется набором максимумов при угле 2θ : 8.51, 8.76, 11.39, 15.48, 17.03, 17.55, 17.77, 18.31, 19.05, 19.21, 19.73, 20.23, 21.26, 21.78, 22.56, 23.86, 24.32, 25.50, 26.05, 27.07, 28.22, 29.13, 29.5, 30.11, 31.22, 31.76, 37.2, 38.14, 40.25, 41.33, 41.94. На Фиг. 1 приведена дифрактограмма формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в диапазоне от 3 до 70 град 2θ . На Фиг. 2 приведена та же самая дифрактограмма с увеличенным

разрешением в диапазоне от 5 до 45 град 2θ для удобства ее дальнейшего анализа.

Характеристичными максимумами на дифрактограмме считали только те максимумы, которые превосходили приборное фоновое значение в 3 раза. Среднее фоновое значение на дифрактограммах составило 80 импульсов, соответственно, характеристичными были выбраны те максимумы, интенсивность которых превышала 240 импульсов. Нормирование интенсивности максимумов проводили по самому интенсивному максимуму при угле 23,86 град 2θ , который приняли за 100%.

10 Сравнительный анализ дифракционных максимумов формы I, форм А и В из CN103382179 А, которые являются наиболее близкими по структуре, приведен в Таблице 1. В таблице отмечены все характеристичные максимумы и их интенсивности. Анализ совпадающих максимумов выполнялся по следующей схеме:

15 1. В соответствии с общепринятыми правилами среди специалистов по дифракционному анализу считалось, что максимумы на дифрактограмме совпадают, если расхождение в значениях угла 2θ отличается не более чем на $\pm 0,2$ град. В случае такого совпадения угла 2θ , в таблице указывалось, что «есть» совпадение.

20 2. Считалось, что интенсивности максимумов совпадают, если расхождение в значениях интенсивности максимума не превышало $\pm 50\%$ от табличных значений для формы А, приведенных в CN103382179 А. В случае такого совпадения интенсивности, в таблице указывалось, что «есть» совпадение. Значение $\pm 50\%$ было выбрано исходя из возможной большой погрешности

25 определения интенсивности для образцов с разной морфологией.

3. Если дифракционный максимум для формы А из CN103382179А не совпадает ни с одним из максимумов новой формы I в диапазоне $\pm 0,2$ град 2θ , то в таком случае отмечалось, что «нет» совпадения и для такого максимума интенсивности не сравнивались. Таким образом, проведенный

30 сравнительный анализ положений максимумов на дифрактограмме и их интенсивностей новой формы I и форм А и В показал, что:

Форма I характеризуется дифрактограммой, содержащей 31 характеристичный дифракционный максимум, форма A – 25 максимумов, форма B – 15 максимумов.

Характеристичные максимумы в форме I начинаются с 8.51 град 2θ ,
5 характеристичные максимумы в форме A начинаются с 16.25388 град 2θ , в форме B – с 15.48400.

Среди 31-ого характеристичного дифракционного максимума в форме I одновременно по положению угла 2θ и интенсивности совпали только три дифракционных максимума с формой A.

10 Среди 31-ого характеристичного дифракционного максимума в форме I только по положению угла 2θ совпали 10 дифракционных максимума с формой A. С формой B совпали 14 дифракционных максимума, остальные 19 максимумов, характеризующие форму I в форме B отсутствуют.

Таким образом, проведенный сравнительный анализ положений
15 максимумов на дифрактограмме 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты подтвердил, что была получена новая неизвестная ранее форма I, которая характеризуется своим собственным набором характеристичных максимумов на дифрактограмме (Фиг. 1, 2).

Новая, заявляемая кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-
20 этилкарбамоил]-бутановой кислоты характеризуется ИК-спектром в котором содержатся 34 основных максимума поглощения при 3240, 3147, 3097, 3003, 2965, 2853, 2793, 2649, 1640, 1562, 1476, 1454, 1416, 1379, 1332, 1302, 1271, 1211, 1193, 1123, 1086, 1066, 1048, 1031, 933, 880, 836, 805, 761, 741, 708, 666, 655 и 637 cm^{-1} (Фиг. 3). Наиболее интенсивный максимум в
25 ИК-спектре находится при 637 cm^{-1} , который отсутствует в форме A и B из CN103382179A.

Кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-
бутановой кислоты характеризуется ДСК-ТГА термограммой (Фиг. 4).
Температура плавления формы I составляет 201 °C. Потери массы до
30 температуры плавления не происходит, что свидетельствует об отсутствии сольватированных молекул растворителя в кристаллической структуре формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.

Подтверждением сохранения структуры молекулы в кристаллической форме I является проведенный анализ ЯМР-¹H (Фиг. 5), который оказался идентичен до и после процесса получения кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-
5 бутановой кислоты.

Способ получения кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты заключается в растворении 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в растворителе, в котором возможно достигнуть концентрации 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-
10 этилкарбамоил]-бутановой кислоты 6-17% масс. и более и дальнейшем медленном упаривании раствора под вакуумом до полного удаления растворителя.

Повышенные концентрации раствора 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты можно достигнуть нагреванием
15 раствора при одновременном перемешивании до тех пор, пока не растворится весь осадок вещества и раствор не станет полностью прозрачным.

Было обнаружено, что форма I образуется при скорости упаривания концентрированного раствора 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-
20 бутановой кислоты 0,05-0,5% от массы всего растворителя за одну минуту процесса. Нагревание раствора в процессе выпаривания допускается, если скорость удаления растворителя не выходит за границы этого диапазона. Температура упаривания раствора предпочтительно должна находиться в диапазоне от 25°C и до температуры кипения растворителя за вычетом 10-15
25 градусов, т.е. раствор не должен подвергаться кипению. В частности температура упаривания может составлять от 25 до 170 °C. В кипящем слое раствора инициируется образование зародышей другой кристаллической фазы, что приводит к образованию значительной доли примесей. Время проведения процесса выпаривания может составить от 200 до 2000 мин, в
30 зависимости от объема растворителя, глубины вакуума и температуры раствора. Выход формы I не менее 98%.

В качестве растворителя рекомендуется использовать воду, диметилсульфоксид или их смеси в различных соотношениях. Предпочтительно использовать смесь вода/диметилсульфоксид в соотношении от 20:1 до 2:1 по объему.

- 5 Преимуществом данного способа является простота исполнения, использование стандартного лабораторного и промышленного оборудования, возможность регулирования температуры, давления и скорости выпаривания в широком диапазоне, одностадийность процесса без необходимости охлаждения, фильтрования и дополнительных промывок, а также высокий выход продукта.

10 Кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты предназначена в качестве субстанции для получения фармацевтической композиции для профилактики и лечения вирусных заболеваний. В частности, областью возможного применения является лечение и профилактика гриппа А и В и других острых респираторных вирусных инфекций (например, аденовирусная инфекция, парагрипп, респираторно-синцитиальная инфекция, риновирусная инфекция) у взрослых и детей.

20 Было установлено, что применение терапевтически эффективного количества кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты на экспериментальной модели *in vivo* (хорьки) эффективно и достоверно снижает клинические проявления гриппозной инфекции, такие как чихание, нарушение дыхания, снижение активности. В качестве показателей эффективности в эксперименте использовали клиническую картину заболевания, динамику изменения температуры тела, макро- и микроскопические изменения в легких, клеточный состав назальных смывов, клинический анализ крови. Кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты для профилактики и лечения вирусных заболеваний применялась как отдельно, так и в составе фармацевтической композиции с набором различных фармацевтически приемлемых добавок. Такое применение включает в себя введение терапевтически эффективного

25

30

количества кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты перорально в виде твердых или жидких лекарственных форм, которыми могут быть таблетки, капсулы, порошок, водный раствор или сироп. Фармацевтически приемлемыми добавками
5 считаются любые вещества, разрешенные к применению регуляторами разных стран для создания лекарственных форм на их основе.

Еще одним объектом изобретения является фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики острых респираторных вирусных заболеваний, выполненная в виде лекарственной формы для
10 перорального введения, содержащей 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в кристаллической форме I и набор фармацевтически приемлемых добавок. Примерами фармацевтически приемлемых добавок могут быть сахараиды, например глюкоза, лактоза или сахароза, сахарные спирты, например, маннит, ксилит или сорбит,
15 производные целлюлозы, например микрокристаллическая целлюлоза, магния цитрат, аспартам, лимонная кислота, аскорбиновая кислота, гидроксипропилметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза. фосфаты кальция, например трикальций фосфат или кислый фосфат кальция; крахмал, например кукурузный, пшеничный,
20 рисовый, картофельный крахмал, желатин, трагакант, поливинилпирролидон и т.п. При необходимости могут быть использованы разрыхляющие агенты, такие как вышеупомянутые крахмалы и карбоксиметилкрахмал, кроскармелоза, поперечно-сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как
25 альгинат натрия. Могут быть использованы необязательные добавки, такие как агенты, регулирующие текучесть, и смазывающие агенты, такие как диоксид кремния, тальк, стеариновая кислота и ее соли, такие как стеарат магния или стеарат кальция, и/или пропиленгликоль, загустители, красители и ароматизаторы. Таблетки и капсулы могут быть покрыты оболочками.

30 В другом варианте осуществления изобретения для дополнительного усиления противовирусного эффекта фармацевтическая композиция может содержать дополнительное известное активное вещество, обладающее

противовирусной активностью. В конкретных вариантах осуществления известное противовирусное вещество выбирается из группы, состоящей из умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.

5 Наиболее удобными для применения кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты являются твердые лекарственные формы в виде таблеток, капсул или порошка, содержащие терапевтически эффективное количество формы I.

10 Терапевтически эффективное количество кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в твердых лекарственных формах составляет от 30 до 90 мг.

15 Для перорального применения можно использовать жидкие лекарственные формы, которые изготавливают растворением кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в водных растворах или сиропах.

Жидкие формы могут содержать ПАВ, сахара, глицерол, растительные компоненты, загустители, подкислители, красители, ароматизаторы и другие применяемые для этих целей фармацевтически приемлемые добавки.

20 Дозировка кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в водных растворах или сиропах составляет от 6 до 18 мг/мл.

Все используемые фармацевтические композиции применяются перорально.

25 Для идентификации или обнаружения кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в твердых лекарственных формах возможно использование методов рентгенофазового анализа, инфракрасной спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии.

30 Метод рентгенофазового анализа на разнообразных составах фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в количестве по

меньшей мере 10% масс. от массы единичной лекарственной формы, вне зависимости от вида твердой лекарственной формы (таблетка, капсула (внутреннее содержимое капсулы), порошок) выявляет шесть максимумов при угле 2θ : $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$,
5 которые соответствуют форме I. При любых составах фармацевтической композиции остаются пять любые максимумов из этих шести (Фиг. 6).

Таким образом, подтверждением того, что в фармацевтической композиции находится кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты являются следующие наборы значений
10 углов 2θ на дифрактограмме:

$19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$;

$20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;

$19,05\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;

$19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$.

15 Использование метода рентгенофазового анализа достаточно для идентификации кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в составе фармацевтической композиции, если ее количество в композиции по меньшей мере 10% масс.

Метод инфракрасной спектроскопии на разнообразных составах
20 фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в количестве по меньшей мере 10% масс. от массы единичной лекарственной формы, вне зависимости от вида твердой лекарственной формы (таблетка, капсула (внутреннее содержимое капсулы), порошок) всегда выявляет максимум при
25 637 см^{-1} , который является характеристичным только для формы I (Фиг. 7).

Использование метода инфракрасной спектроскопии достаточно для идентификации кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в составе фармацевтической композиции, если ее количество в композиции по меньшей мере 10% масс.

30 Использование одновременно методов рентгенофазового анализа и инфракрасной спектроскопии для идентификации кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в составе

фармацевтической композиции позволяет независимо подтвердить наличие формы I.

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии на разнообразных составах фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в количестве по меньшей мере 10% масс. от массы единичной лекарственной формы, вне зависимости от вида твердой лекарственной формы (таблетка, капсула (внутреннее содержимое капсулы), порошок) выявляет максимум температуры плавления при 10 193±3°C (Фиг. 8). Данный метод по температуре плавления не позволяет однозначно установить, что в композиции находится форма I, поэтому данный метод является дополнительных к двум вышеперечисленным методам.

15 **Краткое описание фигур чертежей**

Фиг. 1. Дифрактограмма кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в диапазоне от 3 до 70 град 2θ.

Фиг. 2 Дифрактограмма кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в диапазоне от 5 до 45 град 2θ.

Фиг. 3. ИК-спектр с Фурье преобразованием формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в диапазоне.

Фиг. 4. Кривые ДСК (1) и ТГ (2) формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.

Фиг. 5. ЯМР-¹H спектр формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты. А – полный спектр; В – увеличенный фрагмент в диапазоне 1,5-3,5 ppm; С – увеличенный фрагмент в диапазоне 6,5-8 ppm.

Фиг. 6. Дифрактограмма фармацевтической композиции, содержащей кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в диапазоне от 3 до 70 град 2θ.

Фиг. 7. ИК-спектр с Фурье преобразованием фармацевтической композиции, содержащей кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.

Фиг. 8. Кривые ДСК (1) и ТГ (2) фармацевтической композиции, содержащей форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.

Далее представлено описание приборов и методик физико-химических измерений.

10 Порошковый рентгенофазовый анализ (РФА) выполнялся 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. Угол 2Θ
15 составил от 3 до 70 градусов.

Исследование температуры плавления, термического поведения и потери массы выполняли методом дифференциальной сканирующей калориметрии и термогравиметрии (ДСК-ТГА) на приборе NETZSCH STA 449 C (Германия) в инертной атмосфере при скорости нагрева 10 град/мин.

20 Спектры инфракрасного излучения (ИК-спектры) получали на ИК-Фурье спектрометре Spectrum Two (Perkin Elmer, США) с приставкой диффузного отражения в диапазоне 4000-600 cm^{-1} с разрешением 2 cm^{-1} , количество сканов – 10.

ЯМР- ^1H спектры получали на ЯМР-спектрометре Bruker Avance
25 (Германия) с частотой 600 МГц в ДМСО- d_6 .

Тестирование стабильности (тест ускоренного хранения) проводили в камере Memmert HCP50 (Германия) при 40°C и влажности 75% в соответствии с Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10.05.2018 № 69 «Об утверждении Требований к исследованию
30 стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций».

Лучший пример осуществления изобретения

Изобретение иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается ими.

Пример 1.

5 *Получение кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.*

7,0 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты медленно при перемешивании растворяют в 100 мл воды, нагретой до 85°C. Из получившегося горячего раствора с концентрацией 10% медленно
10 отгоняют воду на роторном испарителе (давление 10 мм. рт. ст.) со скоростью 0,5 мл/мин до полного удаления растворителя. Ориентировочное время процесса составило 200 мин. Выход формы I – 98,0%.

Образуется кристаллическая форма I с выходом 99,1%. Структура кристаллической решетки подтверждается рентгенофазовым анализом (Фиг. 1, 2). Форма I имеет характерный ИК-спектр (Фиг. 3). Методом дифференциальной сканирующей калориметрией установлена температура плавления равная 201°C (Фиг. 4). Методом ¹H-ЯМР подтверждено сохранение структуры 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой
15 кислоты до и после её перекристаллизации, спектры оказались идентичны (Фиг. 5).
20

Другой способ получения формы I заключается в растворении 200 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 1000 мл диметилсульфоксида при перемешивании и температуре 25°C и отгонке растворителя на роторном испарителе при 4 мм. рт. ст. со скоростью 0,05
25 мл/мин до полного удаления растворителя. Общее время процесса составило чуть более 33 ч. Выход формы I – 99,5%. Физико-химические характеристики соответствуют Фиг. 1-5.

Другой способ получения формы I заключается в растворении 50 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 500 мл смеси
30 диметилсульфоксида с водой (1:1) при перемешивании и температуре 30°C и отгонке растворителей на роторном испарителе при 7 мм. рт. ст. со

скоростью 0,15 мл/мин до полного удаления растворителя. Выход формы I – 98,7%. Физико-химические характеристики соответствуют Фиг. 1-5.

5 Еще один способ получения формы I заключается в растворении 50 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 500 мл смеси диметилсульфоксида с водой (1:9) при перемешивании и температуре 60°C и отгонке растворителей на роторном испарителе при 4 мм. рт. ст. со скоростью 0,4 мл/мин до полного удаления растворителя. Выход формы I – 99,0%. Физико-химические характеристики соответствуют Фиг. 1-5.

10 Еще один способ получения формы I заключается в растворении 90 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 500 мл смеси диметилсульфоксида с водой (9:1) при перемешивании и температуре 60°C и отгонке растворителей на роторном испарителе при 5 мм. рт. ст. со скоростью 0,08 мл/мин до полного удаления растворителя. Выход формы I – 99,0%. Физико-химические характеристики соответствуют Фиг. 1-5.

15 Другой способ получения формы I заключается в растворении 50 г 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в 500 мл смеси диметилсульфоксида с водой (4:1) при перемешивании и температуре 35°C и отгонке растворителей на роторном испарителе при 3 мм. рт. ст. со скоростью 0,06 мл/мин до полного удаления растворителя. Выход формы I – 98,4%. Физико-химические характеристики соответствуют Фиг. 1-5.

Пример 2.

Изучение стабильности композиций на основе кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты методом ускоренного хранения.

25 Форма I в виде субстанции и лекарственной формы (таблетки, капсулы и порошка) закладывались на хранение (n = 5) в климатическую камеру и выдерживались в течение 16 месяцев при температуре 40°C и влажности 75°C. Анализ проб проводили каждые 2 мес. Определение количества вещества и продуктов его разложения выполняли методом ВЭЖХ, контроль кристаллической формы I выполняли методом
30 рентгенофазового анализа. Данные о стабильности приведены в Таблице 2.

Из Таблицы 2 следует, что все форма I и лекарственные формы на ее основе стабильны в течение 16 месяцев в методе ускоренного хранения, что соответствует более 5 годам хранения в обычных условиях. Рентгенофазовый анализ в каждом случае подтвердил кристаллическую структуру формы I в испытуемых образцах, дифрактограммы соответствовали Фиг. 1.

Пример 3.

Применение кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты для лечения и профилактики вирусных заболеваний.

Оценку противовирусной активности кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты (далее Форма I) выполняли на модели гриппозной инфекции у хорьков.

Со времени открытия восприимчивости хорьков (*Mustela putorius furo*) к вирусу гриппа в 1930-х годах, они остаются одной из лучших моделей заражения гриппом на животных, поскольку у них проявляются многие из клинических симптомов, наблюдаемых у людей после заражения гриппом. В отличие от мышей, хорьки от природы восприимчивы к изолятам вируса гриппа человека. Вирусы человеческого и птичьего гриппа эффективно реплицируются в дыхательных путях хорьков, и у хорьков также присутствуют клинические признаки, обнаруживаемые у людей после инфицирования вирусом сезонного или птичьего гриппа – насморк, лихорадка и т.п. Хорьки могут быть непосредственно инфицированы вирусом гриппа человека без предварительной вирусной адаптации и способны передавать вирус гриппа между собой. Восприимчивость хорьков к вирусам человеческого гриппа обусловлена присутствием в слизистой дыхательных путей концевых α 2-6-связанных N-ацетилнейраминовых сиаловых кислот (Neu5AC), что способствует связыванию вируса и инициации репликации вируса (Smith J.H., Nagy T., Driskell E., Brooks P., Tompkins S.M., Tripp R.A. Comparative pathology in ferrets infected with H1N1 influenza A viruses isolated from different hosts // Journal of virology. – 2011. – Vol. 85, No 15. – P. 7572-7581).

В эксперименте использовали серонегативных (по наличию антител к вирусу гриппа А) самцов хорьков возраста 6-8 мес. Тестируемые препараты/формы (или плацебо) вводили животным по следующей схеме: за 1 день до заражения животных, в день заражения и далее 3 дня после 5 заражения. В качестве препарата сравнения были выбраны препарат Ингавирин® и Тамифлю®, который животным вводили перорально в суточной дозе 15 мг/кг. Поскольку предварительные эксперименты не выявили различий в эффекте при приеме формы I в виде фармацевтической субстанции или лекарственной формы (капсула), то все дальнейшие 10 эксперименты выполнялись на лекарственной форме в виде капсул (Таблица 10, пример № 1).

Высшая терапевтическая доза (ВТД) для коммерческого препарата Ингавирин® – 90 мг на человека (или 1,5 мг/кг при массе 60 кг).

С учетом межвидовых коэффициентов пересчета доз (Guidance for 15 industry. Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers / Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2005) эквивалентная доза (ВТД) составила для хорька - 1,5 мг/кг ×5,3 (коэффициент пересчета) = 7,95 мг/кг (примерно 8 мг/кг).

При изучении противовирусной активности использовали три дозы 20 препарата – 4 мг/кг (1/2 ВТД), 8 мг/кг (ВТД), 16 мг/кг (2 ВТД). Препараты вводили перорально.

В работе использовали штамм пандемического вируса гриппа А. Для 25 заражения хорьков вводили по 0,25 мл вирусосодержащего материала в каждую ноздрю.

В контрольной группе заражение животных вирулентным вирусом гриппа А сопровождалось чиханием, выделениями из носа, нарушением дыхания и снижением активности, отмеченными уже на 2-й день после заражения, повышением температуры тела до 41°C (на 1-2°C выше нормальной температуры), развитием острого системного и местного 30 воспалительного ответа и патоморфологическими изменениями на 4-й день после заражения.

В качестве показателей эффективности в эксперименте использовали клиническую картину заболевания, динамику изменения температуры тела, макро- и микроскопические изменения в легких, клеточный состав назальных смывов, клинический анализ крови.

5 При клиническом осмотре животных регистрировали симптомы со стороны носоглотки, изменения дыхания, активность (Таблица 3).

При максимальной выраженности патологических изменений при клиническом осмотре животному может быть присвоен суммарный балл – 7 (интенсивные выделения из носа+ тяжелое дыхание+ выраженное
10 угнетение). Выраженность симптомов была зафиксирована в порядковой шкале (баллах). Данные представлены в Таблица 4.

Из данных Таблицы 4 следует, что у всех животных, подвергшихся заражению, регистрировали клинические признаки развития гриппозной инфекции, максимально выраженные в контрольной группе животных,
15 начиная со 2-го дня эксперимента. На фоне лечебно-профилактического введения препарата сравнения Тамифлю® в суточной дозе 15 мг/кг после заражения животных вирулентным вирусом гриппа А уменьшалась тяжесть и продолжительность клинических симптомов, таких как чихание, нарушение дыхания, снижение активности.

20 Введение хорькам Ингавирина® и Формы I в дозах 16 мг/кг и 8 мг/кг приводило к эквивалентному достоверному снижению клинических проявлений гриппозной инфекции на 3-й и 4 –й день эксперимента. Применение Ингавирина® и Формы I в дозе 4 мг/кг не снижало выраженность симптомов гриппозной инфекции. Таким образом, форма I и
25 Ингавирин® в дозах 8 и 16 мг/кг, соответственно, обладают сходной противовирусной активностью.

Далее описано изучение влияние тестируемых препаратов на температуру тела хорьков, инфицированных вирусом.

30 На фоне введения препарата сравнения Тамифлю®, формы I и Ингавирина® в дозах 8 и 16 мг/кг наблюдалась выраженная тенденция к снижению температуры тела хорьков, инфицированных вирусом (Таблица 5), тогда как форма I и Ингавирин® в дозе 4 мг/кг практически не снижали

температуры тела экспериментальных животных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что форма I и Ингавирин® в дозах 8 и 16 мг/кг, соответственно, обладают сходной тенденцией к снижению температуры тела у экспериментальных животных, инфицированных вирусом.

5 *Общий анализ крови у хорьков, подвергшихся заражению вирусом.*

Кровь отбирали из локтевой вены, показатели определяли в цельной крови (с антикоагулянтом) на стандартном ветеринарном гематологическом анализаторе. Данные приведены в Таблице 6. Выявлены статистически значимые изменения в лейкоцитарной формуле (в интактной и контрольной
10 групп), проявляющиеся в увеличении популяции гранулоцитов и снижения популяции лимфоцитов у хорьков, подвергшихся заражению, что свидетельствует о развитии системной воспалительной реакции.

Тамифлю® (15 мг/кг), Ингавирин® и форма I в дозах 16 мг/кг показали максимальную активность, проявляющиеся в достоверном увеличении
15 популяции лимфоцитов и снижении популяции гранулоцитов (Таблица 6). Форма I в дозе 8 мг/кг обладала выраженной противовирусной активностью, тогда как Ингавирин® в дозе 8 мг/кг подобной активностью не обладал, что свидетельствует о превосходящей активности формы I по сравнению с Ингавирином®. При введении Ингавирина® и формы I в дозе 4 мг/кг,
20 наблюдалась только тенденция в изменении показателей лейкоцитарной формулы, что свидетельствует об отсутствии выраженной противовирусной активности.

Изучение клеточного состава назальных смывов.

У всех животных на 1, 2, 3 и 4 день под кратковременным наркозом
25 выполняли забор назальных смывов. Для забора назальных смывов хорькам (под наркозом) дозатором в один носовой ход вводили 1 мл фосфатно-солевого буфера. Количество конкретных типов клеток (гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов/макрофагов) рассчитывали после приготовления предметных стекол, окрашенных Мей-Грюнвальд-Гимза, методом световой
30 микроскопии. Было подсчитано не менее 100 клеток и оценены процентные значения для каждой популяции клеток (Таблица 7).

Инфицирование хорьков вирусом гриппа приводило к развитию острого воспаления в носовых ходах, которое характеризовалось увеличением популяции моноцитов в слизи. На фоне введения препарата сравнения Тамифлю[®], Ингавирин[®] в дозах 16 мг/кг и 8 мг/кг, а также 5
Формы I в дозах 16 мг/кг, 8 мг/кг и 4 мг/кг происходило достоверное снижение популяции моноцитов, свидетельствующее об уменьшении воспалительного процесса. При введении Ингавирин[®] в дозе 4 мг/кг наблюдалась только тенденция к уменьшению воспаления. Таким образом, форма I достоверно проявила фармакологическую активность в дозах 4, 8 и 10
16 мг/кг, тогда как Ингавирин[®] обладал достоверной активностью только в дозах 8 и 16 мг/кг, что свидетельствует о более высокой активности формы I.

Патоморфологические исследования

На 4 день после инфицирования хорьков вирусом гриппа проводили 15 патоморфологические исследования. Оценку патологии проводили по ряду критериев (Таблица 8), которым присваивалось значение, соответствующее выраженности процесса: 0 – изменения отсутствуют, 1 балл – минимальные изменения, 2 балла – незначительные изменения, 3 балла – умеренно выраженные изменения, 4 балла – сильно выраженные изменения, 5 - 20
максимально выраженные изменения.

По результатам патоморфологического исследования во всех экспериментальных группах, инфицированных вирусом, независимо от вводимого тестируемого препарата, регистрировали воспаление, затрагивающее все ткани легкого животных.

У животных было выявлено повреждение воздухоносных путей от слабо до умеренно выраженного бронхита и бронхиолита, единичные небольшие участки некроза эпителия, слабо выраженная гипертрофия и гиперплазия эпителиальной выстилки. Слабо и умеренно выраженное воспаление в респираторном отделе затрагивало бронхи, бронхиолы, сосуды 25
и альвеолы в виде лимфоцитарной и мононуклеарной инфильтрации. Наблюдались реакция легочной ткани в виде слабой и умеренной гиперемии альвеолярных перегородок, геморрагий и эмфиземы. 30

В контрольной группе животных выраженность повреждений составила 5 баллов. На фоне лечебно-профилактического введения препарата сравнения Тамифлю® выраженность повреждений составила 2 балла. При введении Ингавирина® в дозах 8 и 16 мг/кг выраженность повреждений была умеренна и оценивалась в 3 балла, тогда как при применении формы I в дозах 8 и 16 мг/кг развивались незначительные повреждения дыхательной системы, оцениваемые в 2 балла. При применении Ингавирина® и формы I в дозе 4 мг/кг изменения со стороны бронхолегочной системы носили значительно выраженный характер и составили 4 балла. Таким образом, форма I в дозах 8 и 16 мг/кг проявила выраженный фармакологический эффект, сопоставимый с эффектом препарата сравнения Тамифлю®, тогда как Ингавирин® в дозах 8 и 16 мг/кг существенно уступал по активности форме I в эквивалентных дозах и препарату сравнения Тамифлю®.

Совместно раздельное применение или в составе композиции дополнительного противовирусного вещества, выбранного из группы умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций повышает результативность лечения в целом на 10-50% в зависимости от механизма действия и дозировки вещества.

Пример 4.

Фармацевтические композиции, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты.

Варианты фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, представлены в следующих примерах, но не ограничиваются ими.

Вариант 1. Таблетки.

Фармацевтические композиции на основе кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде таблеток представлены в Табл. 9.

Композиция в виде таблетки содержит от 30 до 90 мг кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-

бутановой кислоты. Вспомогательные вещества: кроскармеллоза натрия – 1,5-15 мг; магния стеарат – 0-2 мг; стеариновая кислота – 0-2 мг; целлюлоза микрокристаллическая – 25-80 мг; Повидон К-30 – 1-3 мг; кальция гидрофосфат – 0-100 мг; крахмал картофельный – 20-75 мг; – 1,5-15 мг, 5 кальция стеарат – 0-3 мг. Таблетки могут быть дополнительно покрыты пленочной оболочкой.

Дополнительно таблетка может содержать от 5 до 100 мг умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинации.

10 В процессе прессования было замечено, что таблетки, содержащие форму I, более устойчивы к рассыпанию и прессуются при меньшем давлении, чем до перекристаллизации. Также форма I практически не прилипла к материалам пресса, что указывает на улучшение ее технологических свойств.

15 Вариант 2. Капсула

Фармацевтические композиции на основе кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде капсул представлены в Таблице 10.

Композиция в виде таблетки содержит от 30 до 90 мг 20 кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты. Вспомогательные вещества: кремния диоксид коллоидный – 0,73-2,2 мг; крахмал картофельный – 11-33 мг; лактозы моногидрат – 0-90 мг; магния стеарат – 0,73-2,2 мг; целлюлоза микрокристаллическая – 0-64 мг; повидон К-25 – 0-10 мг; кроскармеллоза 25 натрия – 0-4 мг.

Дополнительно капсула может содержать от 5 до 100 мг умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинации.

Оболочка капсулы может содержать в себе стандартно применяемые 30 для этих целей вещества. Вариант 1: титана диоксид – 1,3%; краситель пунцовый – 0,0008%; краситель азорубин – 0,307%; краситель хинолиновый

желтый – 0,4207%; желатин — до 100%. Вариант 2: титана диоксид – 1%; краситель железа оксид желтый – 1%, желатин — до 100%.

Вариант 3. Порошок.

Фармацевтические композиции на основе кристаллической формы I
5 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в виде порошка представлены в Таблице 11.

Композиция в виде порошка содержит от 30 до 90 мг кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-
10 бутановой кислоты. Вспомогательные вещества: маннитол – 0-4 мг; магния цитрат – 100-400 мг; аспартам – 0-50 мг; лимонная кислота – 25-50 мг; аскорбиновая кислота – 0-400 мг; повидон К-30 – 5-15 мг; ароматизаторы – до 200 мг.

Ароматизатор может включать разные вещества, включая, но не ограничиваясь ими: мальтодекстрин, камедь акации, α -пинен, β -пинен,
15 лимонен, γ -терпинен, линалоол, нераль, α -терпинеол, гераниаль и др.

Дополнительно порошок может содержать от 5 до 100 мг умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинации.

Вариант 4. Жидкие формы.

Композиция в виде водного раствора/сиропа содержит от 6 до 18
20 мг/мл кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты. Вспомогательные вещества на 100 мл жидкой формы: мальтитол – 0-1000 мг; глицерол – 0-3000 мг; камедь ксантовая – 0-300 мг; лимонная кислота – 0-50 мг; метилпарагидроксибензоат натрия – 0-100 мг;
25 ароматизаторы – до 200 мг; вода – до 100% (Таблица 12).

Дополнительно раствор может содержать от 1 до 20 мг/мл умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинации.

Пример 5.

30 *Способ идентификации кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в составе твердых фармацевтических композиций*

Таблетки, капсулы и порошок, полученные по примеру 4 (без дополнительного противовирусного вещества), были подвергнуты физико-химическому анализу методами рентгенофазового анализа, инфракрасной спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии для выявления возможности идентификации кристаллической формы I в смеси различных вспомогательных веществ. Было установлено, что при содержании в фармацевтической композиции формы I более 10% масс. она может быть идентифицирована как методом рентгенофазового анализа, так и методом инфракрасной спектроскопии, а также при использовании этих двух методов совместно. Это следует из характеристичных максимумов на дифрактограмме и одного характеристичного максимума в ИК-спектре фармацевтических композиций, содержащих по меньшей мере 10% масс. формы I. Метод дифференциальной сканирующей калориметрии лишь косвенно указывает содержание формы I и является вспомогательным для методов рентгенофазового анализа и инфракрасной спектроскопии.

Было выявлено, что метод рентгенофазового анализа на разнообразных составах фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в количестве по меньшей мере 10% масс. от вне зависимости от вида твердой лекарственной формы (таблетка, капсула, порошок) выявляет шесть максимумов при угле 2θ : $8,51 \pm 0,2$, $8,76 \pm 0,2$, $19,05 \pm 0,2$, $20,23 \pm 0,2$, $21,26 \pm 0,2$, $23,86 \pm 0,2$, которые соответствуют форме I. При любых составах фармацевтической композиции остаются пять любых максимумов из этих шести..

В качестве примера на Фиг. 6 приведена дифрактограмма содержимого капсулы, содержащей кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты и ряд вспомогательных веществ (Таблица 10, пример 1). На Фиг. 6 хорошо видны шесть максимумов при угле 2θ $8,51 \pm 0,2$, $8,76 \pm 0,2$, $19,05 \pm 0,2$, $20,23 \pm 0,2$, $21,26 \pm 0,2$, $23,86 \pm 0,2$, которые являются и наиболее интенсивными и характеристичными ($8,51 \pm 0,2$, $8,76 \pm 0,2$) и совпадают с максимумами формы I в чистом виде.

Остальные максимумы не брались в расчет из-за их смещений и вследствие слабой интенсивности.

Изменяя составы фармацевтических композиций, пять из шести указанных максимумов всегда присутствуют на дифрактограмме. Можно однозначно идентифицировать кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в твердой фармацевтической композиции методом рентгенофазового анализа как минимум по пяти из шести максимумов при угле $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$ 2θ градусов.

Таким образом, подтверждением того, что в фармацевтической композиции находится кристаллическая форма I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты являются следующие наборы значений углов 2θ на дифрактограмме:

$8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;
 $8,51\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;
 $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;
 $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;
 $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $23,86\pm 0,2$;
 $8,51\pm 0,2$, $8,76\pm 0,2$, $19,05\pm 0,2$, $20,23\pm 0,2$, $21,26\pm 0,2$.

Были выявлено, что метод инфракрасной спектроскопии на различных составах фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в количестве по меньшей мере 10% масс. вне зависимости от вида твердой лекарственной формы (таблетка, капсула, порошок) выявляет характеристичный максимум поглощения при 637 см^{-1} , если форма I в композиции составляет не менее 10% по массе.

В качестве примера на Фиг. 7 приведен ИК-спектр диффузного отражения с Фурье преобразованием содержимого капсулы, содержащей кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты и ряд вспомогательных веществ (Таблица 10, пример 1). На Фиг. 7 хорошо видно, что самым интенсивным максимумом является пик при 637 см^{-1} , который также присутствует в ИК-спектре формы I. Остальные

максимумы могут сильно изменяться в присутствии разнообразных вспомогательных веществ.

Независимо от состава фармацевтических форм, в ИК-спектре всегда присутствует максимум при 637 см^{-1} , что свидетельствует о том, что 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановая кислота в составе композиции находится в кристаллической форме I, поскольку среди аналогов данный максимум в ИК-спектре не обнаружен. Таким образом, можно однозначно идентифицировать кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в твердой фармацевтической композиции методом инфракрасной спектроскопии, если в ИК-спектре присутствует максимум при 637 см^{-1} .

Применение метода дифференциальной сканирующей калориметрии может дополнить два вышеперечисленных метода.

Было замечено, что присутствие вспомогательных веществ достоверно снижает температуру плавления кристаллической формы I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты на 8°C с 201 до 193°C при статистической ошибке $\pm 3^\circ\text{C}$, поскольку вспомогательные вещества имеют более низкую температуру плавления.

В качестве примера на Фиг. 8 приведена ДСК-кривая содержимого капсулы, содержащей кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты и ряд вспомогательных веществ (Таблица 10, пример 1). Из Фиг. 8 видно, что ДСК-кривая 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты на фоне вспомогательных веществ имеет четкий максимум при температуре плавления 193°C . Вспомогательные вещества плавятся до температуры плавления формы I (широкие максимумы до 100°C и четкий максимум при 150°C).

Таким образом, метод дифференциальной сканирующей калориметрии позволяет определить температуру плавления формы I, которая из-за нахождения в смеси веществ с меньшими температурами плавления уменьшается с 201 до 193°C .

В совокупности анализ фармацевтических форм, содержащих форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты методами рентгенофазового анализа, инфракрасной спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии позволяет сделать вывод о том, что определить именно форму I в составе композиции можно используя следующие варианты способов идентификации:

- рентгенофазовый анализ;
- инфракрасная спектроскопия;
- рентгенофазовый анализ в сочетании с инфракрасной спектроскопией.

К этим трем вариантам способов идентификации можно дополнительно применять метод дифференциальной сканирующей калориметрии для более полного анализа.

Таблица 1.

Характеристичные максимумы на дифрактограмме кристаллической формы I и их сравнение с источником CN103382179A.

№	Характеристичные максимумы на дифрактограмме для формы I		Характеристичные максимумы на дифрактограмме для формы A из CN103382179A		Сравнительный анализ на наличие совпадений по углу 2θ в диапазоне $\pm 0,2$ и по интенсивности в диапазоне $\pm 50\%$ от значений, приведенных в CN103382179A		Характеристичные максимумы на дифрактограмме для формы B из CN103382179A
	2θ , град	I, %	2θ , град	I, %	Совпадение угла 2θ	Совпадение интенсивности	Совпадение угла 2θ
1	8.51	4.68					
2	8.76	2.80					
3	11.39	2.72					
4	15.48	11.28	16.25388	4.57	нет	-	15.48400
5	17.03	11.90					17.03720
6	17.55	5.96	17.5537	11.74	есть	есть	17.64442
7	17.77	6.28					17.83801
8	18.31	2.55	18.19366	71.57	есть	нет	
9	19.05	4.55	18.74863	11.11	нет	-	19.08664
10	19.21	4.55					
11	19.73	7.38	19.78359	21.79	есть	нет	
12	20.23	30.35	20.20446	21.6	есть	есть	20.24814
13	21.26	49.15					21.25388
14	21.78	10.05					21.83913
15	22.56	3.44	22.27632	16.08	нет	-	
16	23.86	100.00	24.14684	87.79	нет	-	23.93256
17	24.32	30.42	24.38282	100	есть	нет	24.27171
			24.93973	41.68	нет	-	
18	25.5	7.42	25.34327	87.44	есть	нет	25.48872
19	26.05	2.87	26.41213	5.14	нет	-	
20	27.07	7.02	26.93823	20.58	есть	нет	26.98308
			27.06627	19.15	нет	-	
21	28.22	2.26	28.01838	4.73	есть	нет	
22	29.13	9.34	28.62621	9.48	нет	-	29.09590
23	29.5	3.22	28.94396	16	нет	-	
24	30.11	10.83	29.92034	3.41	есть	нет	30.12190
25	31.22	4.22					
26	31.76	3.47	32.30439	10	нет	-	
			33.21582	7.83	нет	-	
			34.69475	9.49	нет	-	
27	37.2	2.76	37.98252	6.03	нет	-	
28	38.14	3.54	38.91969	5.88	нет	-	
29	40.25	2.87	39.85372	6.87	нет	-	
30	41.33	4.79					41.31897
31	41.94	3.51	42.04231	6.24	есть	есть	

Таблица 2.

Данные ВЭЖХ о содержании 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-
 5 бутановой кислоты в испытуемых образцах в течение 16 месяцев в тесте
 ускоренного хранения (40°C, 75% влажности). Начальное содержание
 формы I нормировалось на 100%.

Образец	Время, месяцы								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
	Содержание вещества в % по данным ВЭЖХ, погрешность 0,5%								
Форма I	100,0	100,1	99,6	100,1	100,3	100,0	99,7	100,1	100,1
Форма I, таблетка	100,0	100,4	99,7	99,9	100,1	100,2	100,0	100,1	99,9
Форма I, капсула	100,0	99,6	99,8	100,3	99,9	100,2	100,1	100,1	100,0
Форма I, порошок	100,0	100,3	100,1	99,5	99,7	100,1	99,7	100,1	99,8

10

Таблица 3.

Регистрация и оценка показателей при клиническом осмотре животного

Регистрируемые показатели	Проявления	Балл
Симптомы со стороны носоглотки	Чихание	1
	Умеренные выделения из носа	1
	Интенсивные выделения из носа	2
Дыхание	Норма	0
	Нарушение дыхания	1
	Тяжелое дыхание	2
Активность	Норма	0
	Умеренное снижение	1
	Выраженное снижение	2
	Выраженное угнетение	3

Таблица 4.

Влияние тестируемых препаратов на общее состояние и поведенческие реакции самцов хорьков, подвергшихся заражению вирусом гриппа (по сумме баллов), Me (LQ ;UQ), n=5. Me – медиана (количество животных со средней частотой проявления признаков); LQ – нижний квартиль (количество животных с минимальной частотой проявления признаков); UQ – верхний квартиль (количество животных с максимальной частотой проявления признаков); Интервал – минимальное и максимальное значения определяемого параметра. 1 – 1-й день – сутки после заражения; * - $p < 0,05$, различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой животных (группа 1), тест Манна-Уитни.

Группа №	Препарат/ доза	Дни эксперимента			
		1	2	3	4
1	Контроль (физиологический раствор)	0 (0;0)	2 (2;3)	3 (2;4)	3 (2;4)
2	Тамифлю [®] , 15 мг/кг	0 (0;0)	1 (0;2)	1 (0;1) *	0 (0;1) *
3	Ингавирин [®] , 16 мг/кг	0 (0;0)	1 (1;2)	1 (0;2) *	1 (1;2) *
4	Ингавирин [®] , 8 мг/кг	0 (0;0)	2 (2;0)	1 (1;2)*	1 (0;2)*
5	Ингавирин [®] , 4 мг/кг	0 (0;0)	2 (2;3)	3 (2;4)	3 (2;4)
6	Форма I, 16 мг/кг	0 (0;0)	1 (0;2)	1(0,2) *	0 (0;1) *
7	Форма I, 8 мг/кг	0 (0;0)	1 (1;2)	1 (1,2) *	1 (0,1) *
8	Форма I, 4 мг/кг	0 (0;0)	2 (2;2)	3 (2;4)	3 (2;4)

Таблица 5.

Влияние тестируемых препаратов на температуру тела самцов хорьков,
подвергшихся заражению вирусом гриппа, в °С, $M \pm m$, $n=5$

№	Препарат/доза	День эксперимента					
		Исходно, до заражения	Сразу после заражения	1-й день лечения	2-й день лечения	3-й день лечения	4-й день лечения
1	Контроль	38,6±0,9	38,2±1,1	38,4±1,2	39,8±1,4	40,1±1,2	40,2±0,8
2	Тамифлю [®] , 15 мг/кг	38,5±1,1	38,1±0,8	38,4±1,0	38,2±0,4	38,1±1,1	38,1±0,6
3	Ингавирин [®] , 16 мг/кг	38,6±0,5	38,3±1,2	38,6±0,8	38,4±1,0	38,4±0,8	38,3±0,8
4	Ингавирин [®] , 8 мг/кг	38,4±0,5	38,0±0,7	38,4±1,1	38,7±0,8	38,6±0,5	38,4±0,8
5	Ингавирин [®] , 4 мг/кг	38,1±1,2	38,2±0,8	38,5±1,0	39,0±0,5	39,1±0,8	39,6±0,5
6	Форма I, 16 мг/кг	38,6± 0,6	38,3± 0,8	38,6± 1,2	38,3± 1,0	38,4±0,7	38,3±0,8
7	Форма I, 8 мг/кг	38,6± 0,8	38,1± 0,5	38,8± 1,0	38,2± 0,5	38,4±1,2	38,6± 0,9
8	Форма I, 4 мг/кг	38,5± 0,7	38,3± 0,5	38,6± 0,5	39,1± 1,2	39,7±1,4	39,8±0,8

Таблица 6.

Влияние тестируемых препаратов/форм на показатели лейкоцитарной формулы у самцов хорьков, подвергшихся инфицированию вирусом гриппа, на 4-й день после заражения, $M \pm m$, $n=5$. * - $p < 0,05$, различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой животных

Группа/суточная доза	Исследуемые показатели		
	LYM, лимфоциты, %	MID, моноциты/ эозинофилы, %	GRA, гранулоциты, %
Интактная (здоровые животные)	60,4 ± 4,6	6,6 ± 0,66	33 ± 4,13
Контрольная (инфицированные животные без лечения)	32,8 ± 3,22	5,6 ± 0,17	61,6 ± 4,58
Тамифлю [®] , 15 мг/кг	41,9±0,95*	6,2±0,72*	51,9±1,75*
Ингавирин [®] , 16 мг/кг	48,6±1,65*	6,1±0,72*	45,3±2,4*
Ингавирин [®] , 8 мг/кг	37,2±2,1	5,6±1,12	57,2±3,25
Ингавирин [®] , 4 мг/кг	34,5±1,78	5,3±0,36	60,2±2,0
Форма I, 16 мг/кг	54,7±1,58*	6,9 ± 0,56*	38,4 ± 2,26*
Форма I, 8 мг/кг	51,5±2,58*	6,3±0,86*	42,2±4,13*
Форма I, 4 мг/кг	37,7±3,34	5,7 ± 1,24	56,6±3,45

Таблица 7.

Влияние тестируемых препаратов на клеточный состав назальных смывов самцов хорьков, подвергшихся заражению вирусом гриппа, на 4-й день после заражения, $M \pm m$, $n=5$. * - $p < 0,05$, различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой животных

Группа/суточная доза	Исследуемые показатели		
	LYM, лимфоциты, %	MID, моноциты/ эозинофилы, %	GRA, гранулоциты, %
Интактная (здоровые животные)	10,5 ± 0,86	0,7 ± 0,33	88,9 ± 1,15
Контрольная (инфицированные животные без лечения)	5,1 ± 0,57	22,7 ± 1,17	72,2 ± 2,42
Тамифлю [®] , 15 мг/кг	4,9±0,78	4,2±0,48*	90,9±2,75
Ингавирин [®] , 16 мг/кг	7,1±1,05	5,4±0,56*	87,5±3,6
Ингавирин [®] , 8 мг/кг	7,0±1,2	7,9±1,12*	85,1±4,89
Ингавирин [®] , 4 мг/кг	7,7±0,98	19,1±2,42	73,2±3,68
Форма I, 16 мг/кг	10,2±0,74	3,5 ± 0,34*	86,3 ± 4,28
Форма I, 8 мг/кг	10,7±1,12	4,1±0,76*	85,2±3,34
Форма I, 4 мг/кг	6,7±3,34	17,3 ± 2,33*	76,0±2,56

Таблица 8.

Гистопатологические параметры оценки дыхательной системы

Эпителиальные повреждения	Воспаление	Альвеолярные повреждения
экссудат в просвете легких	бронхит	гиперемия перегородки
гипертрофия эпителия бронхов	перибронхит	альвеолярная эмфизема
гиперплазия эпителия бронхов	бронхиолит	альвеолярные геморрагии
некроз эпителия бронхов	перибронхиолит	-
экссудат в просвете бронхиол	периваскулит	-
гипертрофия бронхоальвеолярного эпителия	васкулит	-
гиперплазия бронхоальвеолярного эпителия	интерстициальный инфильтрат	-
некроз бронхоальвеолярного эпителия	альвеолит	-

Таблица 9.

- Варианты фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в виде таблеток. Противовирусное вещество выбирается из группы
- 5 умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.

Вещества для капсул	№ примера					
	1	2	3	4	5	6
	Содержание, мг					
Форма I	90	60	30	90	60	30
Противовирусное в-во	-	-	-	5	50	100
Кроскармеллоза натрия	15	10	5	1,5	2	3
Магния стеарат	2	1,5	1	-	-	-
Стеариновая кислота	2	1,5	1	-	-	-
Целлюлоза микрокристаллическая	50	75	100	25	60	80
Повидон К-30	1	2	3	1,5	2	3
Кальция гидрофосфат	50	75	100	-	-	
Крахмал картофельный	-	-	-	20	50	75
Кальция стеарат	-	-	-	1,5	2	3

Таблица 10.

Варианты фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в виде капсул. Противовирусное вещество выбирается из группы

5 умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.

Вещества	№ примера					
	1	2	3	4	5	6
	Содержание, мг					
Форма I	90	60	30	90	60	30
Противовирусное в-во	-	-	-	5	50	100
Кремния диоксид коллоидный	2,2	1,47	0,73	2,2	1,47	0,73
Крахмал картофельный	35,6	22	11,87	33	23,72	11
Лактозы моногидрат	90	-	30	-	60	-
Магния стеарат	2,2	1,47	0,73	2,2	1,47	0,73
Целлюлоза микрокристаллическая	-	42,7	-	64	-	
Повидон К-25	-	6,7	-	10	-	3,3
Кроскармеллоза натрия	-	2,7	-	4	-	1,33

Таблица 11.

Варианты фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в виде порошка. Противовирусное вещество выбирается из группы 5 умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.

Вещества для капсул	№ примера					
	1	2	3	4	5	6
	Содержание, мг					
Форма I	90	60	30	90	60	30
Противовирусное в-во	-	-	-	5	50	100
Маннитол	2	3,5	4	-	-	-
Магния цитрат	400	300	100	400	300	100
Аспартам	25	50	-	25	50	-
Лимонная кислота	25	40	50	25	40	50
Повидон К-30	5	10	15	-	10	15
Аскорбиновая кислота	200	300	400	200	300	-
Ароматизаторы	200	150	150	200	150	150

Таблица 12.

Варианты фармацевтических композиций, содержащих кристаллическую форму I 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты, в виде жидких лекарственных форм. Противовирусное вещество выбирается из группы умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.

Вещества для водного раствора/сиропа	№ примера					
	1	2	3	4	5	6
	Содержание, мг/мл					
Форма I	18	12	6	18	12	6
Противовирусное в-во	-	-	-	1	10	20
	Содержание, мг на 100 мл					
Мальтитол	1000	500	100	-	-	-
Глицерол	100	500	1000	3000	700	-
Камедь ксантовая	20	-	150	10	50	300
Лимонная кислота	50	30	-	50	40	15
Метилпарагидроксибензоат натрия	40	10	100	25	-	80
Ароматизаторы	до 200	до 200	до 200	до 200	до 200	до 200
Вода	до 100%	до 100%	до 100%	до 100%	до 100%	до 100%

Пример 6.

Фармакологическая активность фармацевтических композиций

- 10 Под наблюдением находились 124 пациента с ОРВИ в возрасте от 19 до 63 лет. Все пациенты были включены в исследование не позднее 48 ч от появления первых симптомов болезни: температура 37,5°C и более, кашель,

трахеит, ларингит, головная боль, боли в мышцах, ринит. Больные были разделены на три группы: группа, получавшая композиции по изобретению, контрольная группа, получавшая Ингавирин, контрольная группа- плацебо.

С целью определения этиологии ОРВИ заболевания были проведены лабораторные исследования: детекцию антигенов вирусов гриппа А и В, парагриппа, аденовирусов и респираторно-синцитиального вируса в назальных смывах с помощью реакций иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции. По результатам исследования больные распределились: 79 -грипп А H3N2, 12- грипп H1N1, 3- грипп В, 21- аденовирус, 5- смешанная аденовирус + парагрипп, 1- парагрипп, 3- респираторно-синцитиальный вирус.

Больные 1-й группы получали выборочно композиции в виде капсул (составы 1-3) 60 мг (1 капсула) или композиции таблетки (составы 1-3) 90 мг 1 раз в день, или сироп (состав 2). Курс лечения – 5 дней, курсовая доза – 300-450 мг.

Больные 2-ой (контрольной) группы получали коммерческий препарат Ингавирин® в капсулах по 90 мг 1 раз в день. Курс лечения – 5 дней, курсовая доза – 450 мг.

Анализ продолжительности основных симптомов у больных ОРВИ свидетельствует, что в группе пациентов, получавших заявленные составы, продолжительность периода лихорадки, головной боли, головокружения, слабости, а также кашля и трахеита была достоверно сравнима, и в некоторых случаях меньше, чем у пациентов 2 группы.

В группе 2 наблюдалась быстрая элиминация вируса: на 2-й день лечения вирус не изолировался у 36,4% больных, принимавших Ингавирин®, показатель в 1 группе составил 36,7% соответственно. Результаты (средние) у наблюдаемых пациентов: свидетельствует о достоверном уменьшении периода лихорадки по сравнению с плацебо (на 34,2 часа в 2 группе и 34,6 часов в 1 группе), уменьшении продолжительности головной боли (1,2 суток в 2 группе и 1,2- в 1 группе), слабости (на 1,9 суток в 2 группе и 1,8 в 1

группе), ринита (на 0,1 суток в 2 группе и 0,3 в 1 группе). Катаральные симптомы у больных 1 группы практически исчезали к 5 дню, во 2 группе - к 6-му дню наблюдения (контрольная точка после лечения). Средняя продолжительность кашля в группе 2 составила $2,2 \pm 0,9$ сут, в 1 группе $2,3 \pm 0,8$ сут. Как Ингавирин®, так и составы по изобретению показали восстановление показателей NK-клеточного звена иммунитета: нормализация CD56+ NK, естественных киллеров ЕКК и НКТ, уровня сывороточных IgA и IgM.

Таким образом, композиции по изобретению эффективны при различных видах ОРВИ и гриппа.

Промышленная применимость

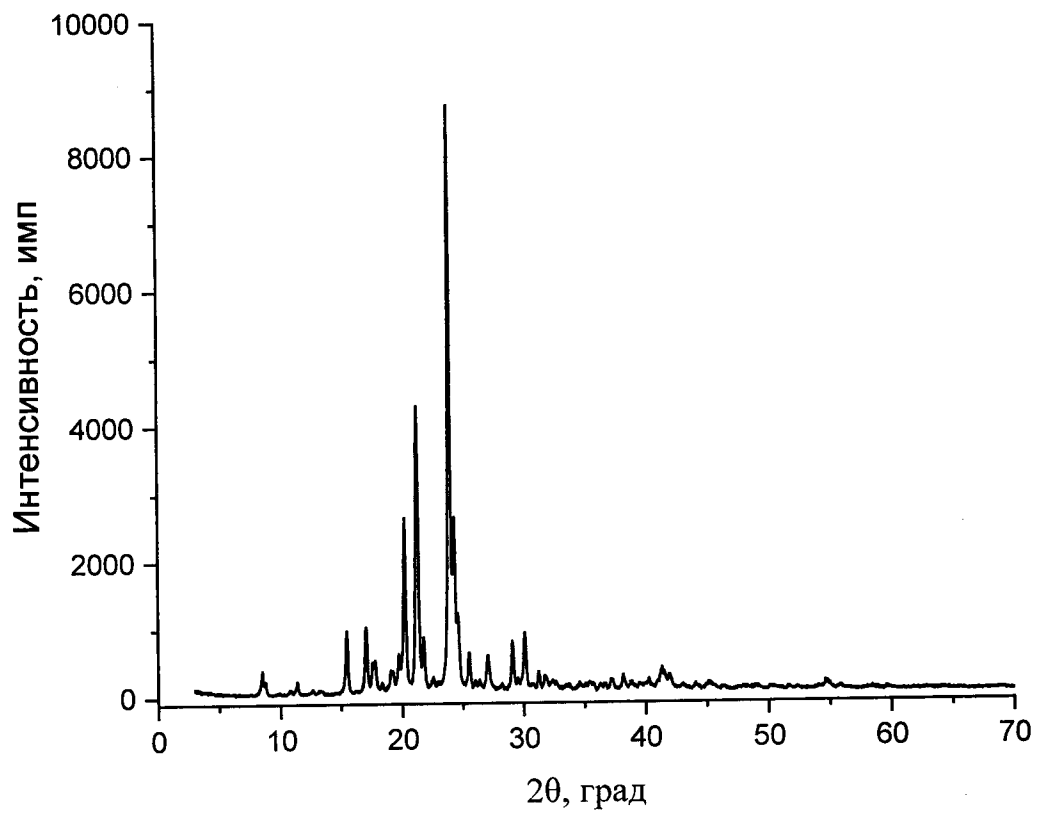
Изобретение относится к фармацевтической химии и химико-фармацевтической промышленности и может быть применено в качестве противовирусного, противовоспалительного и иммуномодулирующего средства.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения и/или профилактики острых
5 респираторных вирусных заболеваний, отличающаяся тем, что она
выполнена в виде лекарственной формы для перорального введения,
содержащей терапевтически эффективное количество 4-[2-(1H-имидазол-4-
ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в кристаллической форме I и
фармацевтически приемлемый носитель, где кристаллическая форма I
10 характеризуется дифрактограммой с набором максимумов при угле 2θ :
8.51±0,2, 8.76±0,2, 11.39±0,2, 15.48±0,2, 17.03±0,2, 17.55±0,2, 17.77±0,2,
18.31±0,2, 19.05±0,2, 19.21±0,2, 19.73±0,2, 20.23±0,2, 21.26±0,2, 21.78±0,2,
22.56±0,2, 23.86±0,2, 24.32±0,2, 25.50±0,2, 26.05±0,2, 27.07±0,2, 28.22±0,2,
29.13±0,2, 29.5±0,2, 30.11±0,2, 31.22±0,2, 31.76±0,2, 37.2±0,2, 38.14±0,2,
15 40.25±0,2, 41.33±0,2, 41.94±0,2.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I
характеризуется дифрактограммой, представленной на Фиг. 1, 2.
3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I на
дифрактограмме в составе композиции характеризуется не менее чем пятью
20 любыми характеристичными максимумами при угле 2θ : 8,51±0,2, 8,76±0,2,
19,05±0,2, 20,23±0,2, 21,26±0,2, 23,86±0,2.
4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I на
дифрактограмме в составе композиции характеризуется дифрактограммой,
представленной на Фиг. 6.
- 25 5. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I
характеризуется максимумами поглощения в ИК-спектре при 3240, 3147,
3097, 3003, 2965, 2853, 2793, 2649, 1640, 1562, 1476, 1454, 1416, 1379, 1332,
1302, 1271, 1211, 1193, 1123, 1086, 1066, 1048, 1031, 933, 880, 836, 805, 761,
741, 708, 666, 655 и 637 см⁻¹.
- 30 6. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I
имеет ИК-спектр, представленный на Фиг. 3.

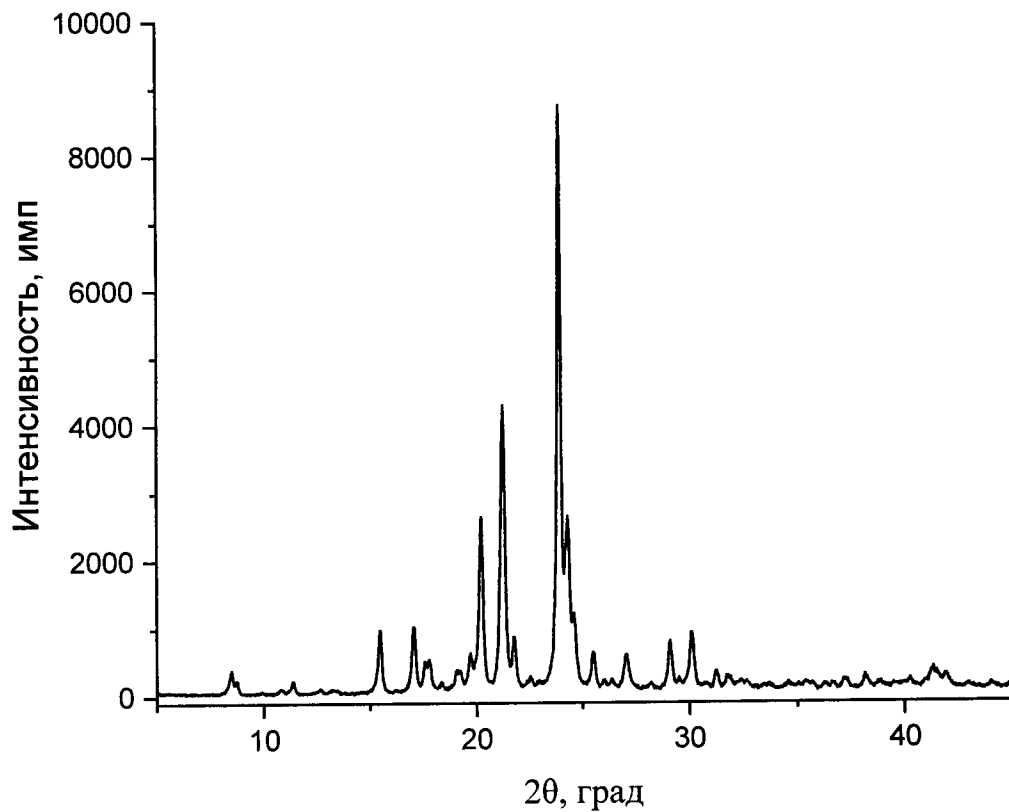
7. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I характеризуется максимумом поглощения в ИК-спектре с максимальной интенсивностью при 637 см^{-1} .
8. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I
5 имеет температуру плавления $201\pm 3^\circ\text{C}$.
9. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что кристаллическая форма I характеризуется ДСК-кривой, представленной на Фиг. 4.
10. Композиция по любому из п.п. 1-9, отличающаяся тем, что дополнительно содержит противовирусное вещество, выбранное из умифеновира, фавипиравира, ремдесивира, паксловиды, молнупиравира или их комбинаций.
11. Композиция по любому из п.п. 1-9, отличающаяся тем, что выполнена в виде твердой дозированной формы, выбранной из таблетки, капсулы или порошка.
- 15 12. Композиция по любому из п.п. 1-9, отличающаяся тем, что выполнена в виде жидкой дозированной формы.
13. Способ получения 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в кристаллической форме I по п. 1, заключающейся в растворении 4-[2-(1H-имидазол-4-ил)-этилкарбамоил]-бутановой кислоты в
20 растворителе, выбранном из воды, диметилсульфоксида или их смеси, до концентрации 6-17% масс. с последующим медленным упариванием полученного раствора под вакуумом до полного удаления растворителя при скорости упаривания растворителя 0,05-0,5% масс./мин.
14. Способ по п. 13, в котором температура упаривания раствора составляет
25 от 25°C и до температуры ниже температуры кипения растворителя на 10-15 $^\circ\text{C}$.

1/8



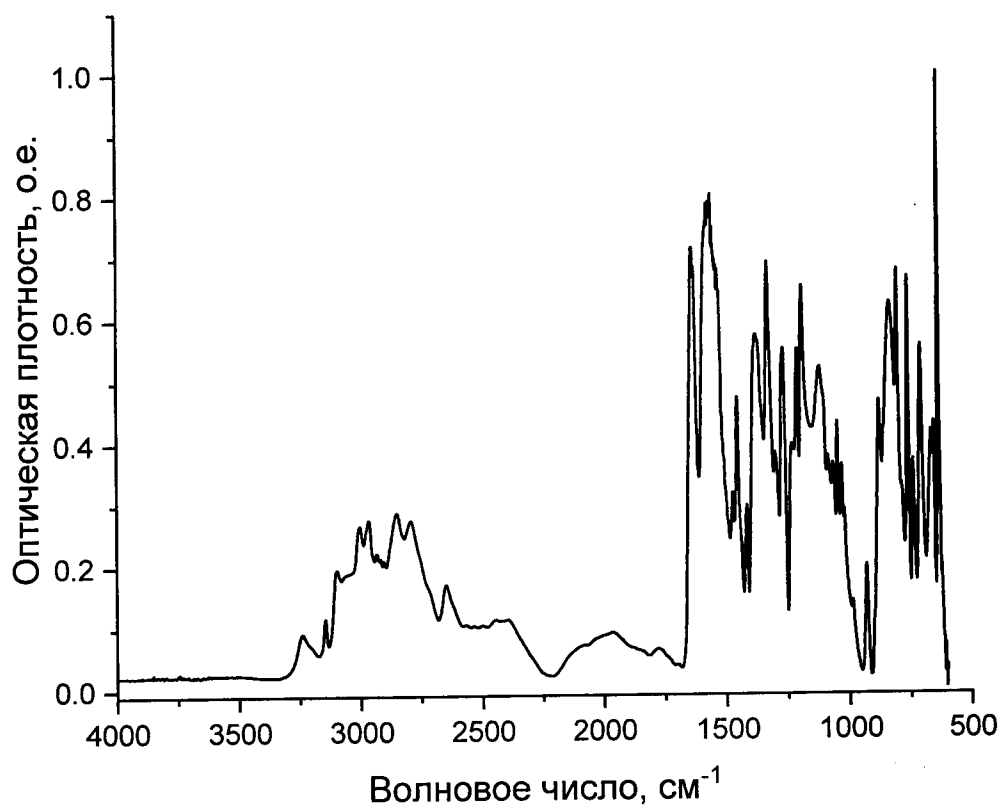
Фиг. 1

2/8



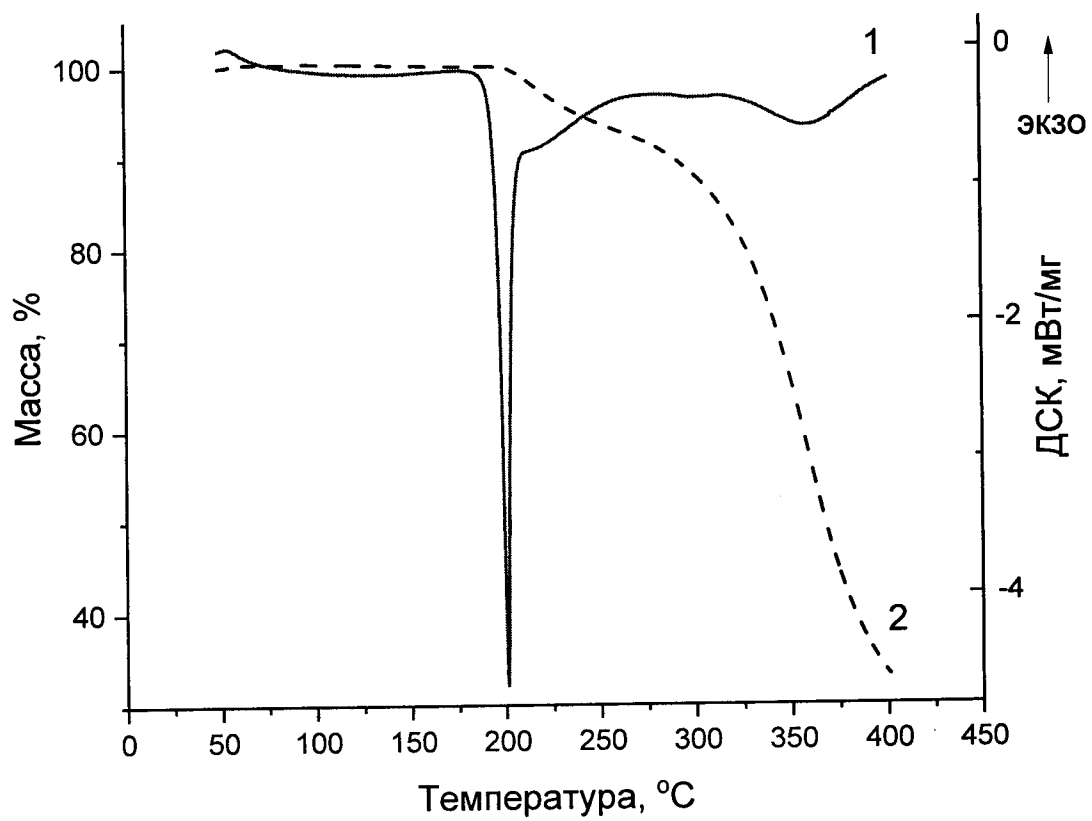
Фиг. 2

3/8



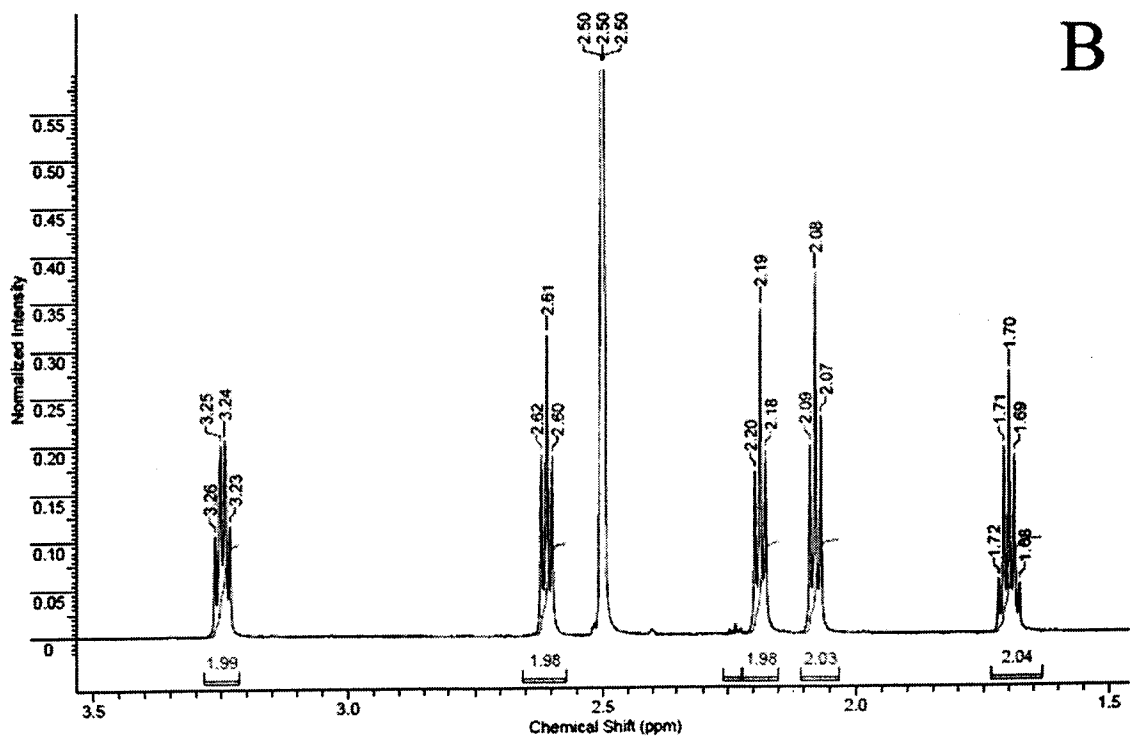
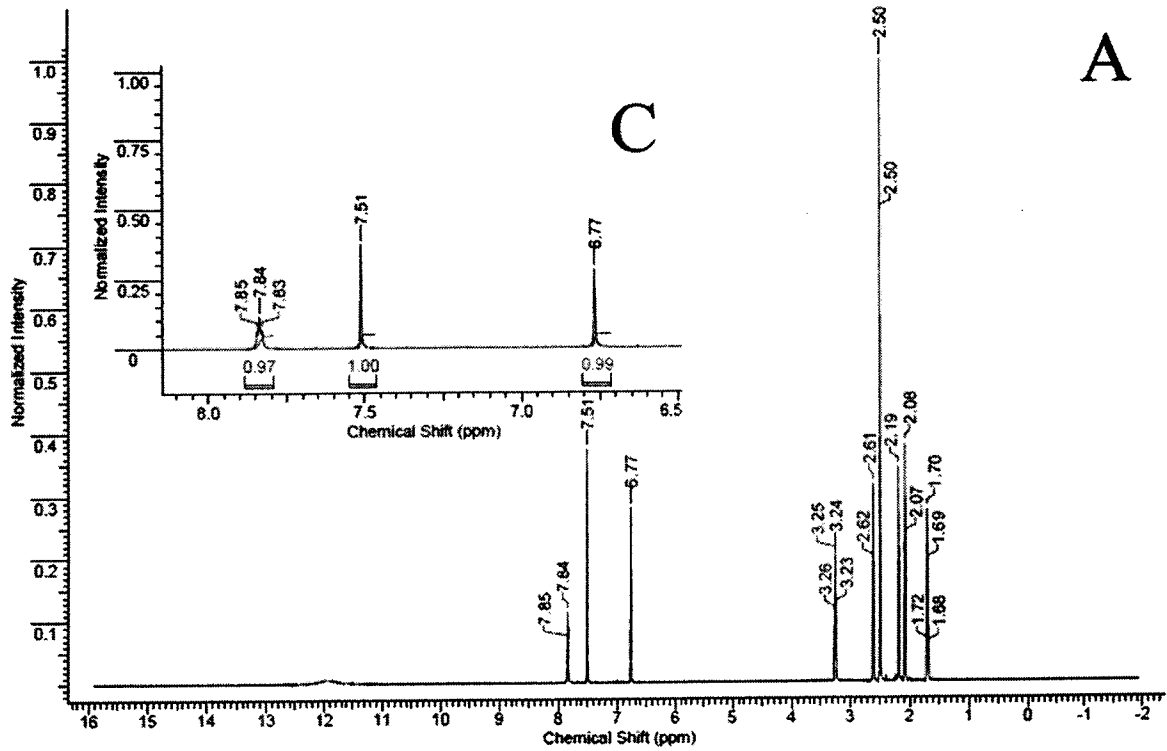
Фиг. 3

4/8



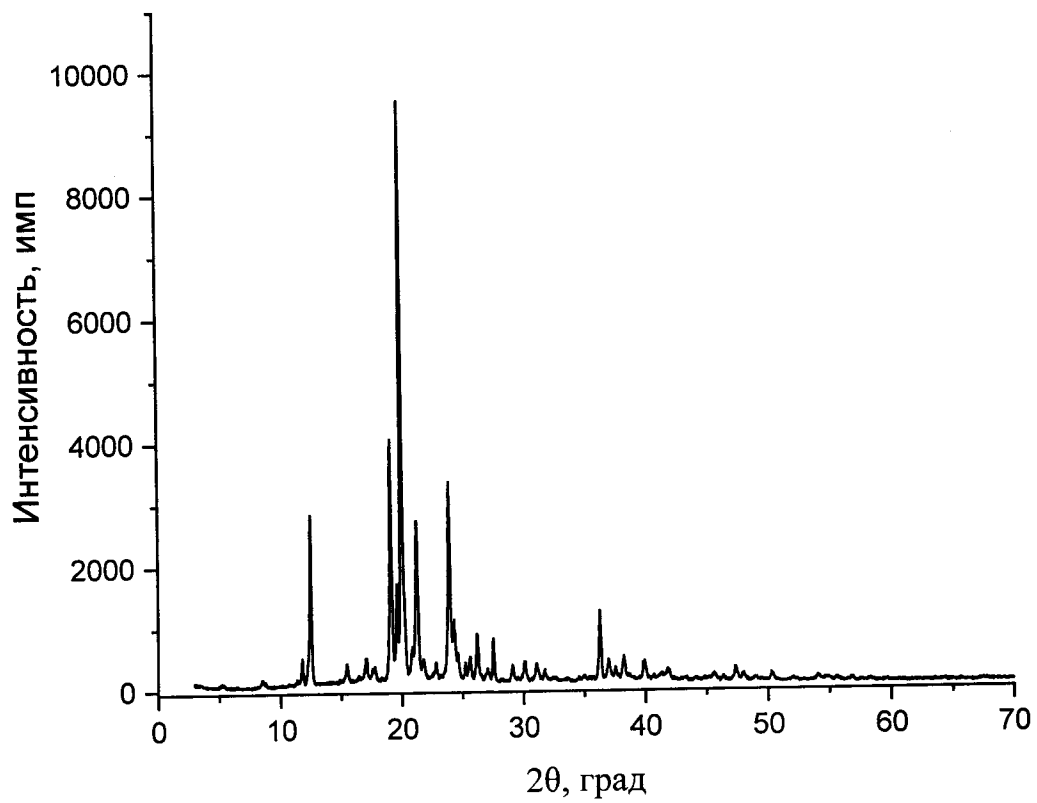
Фиг. 4

5/8



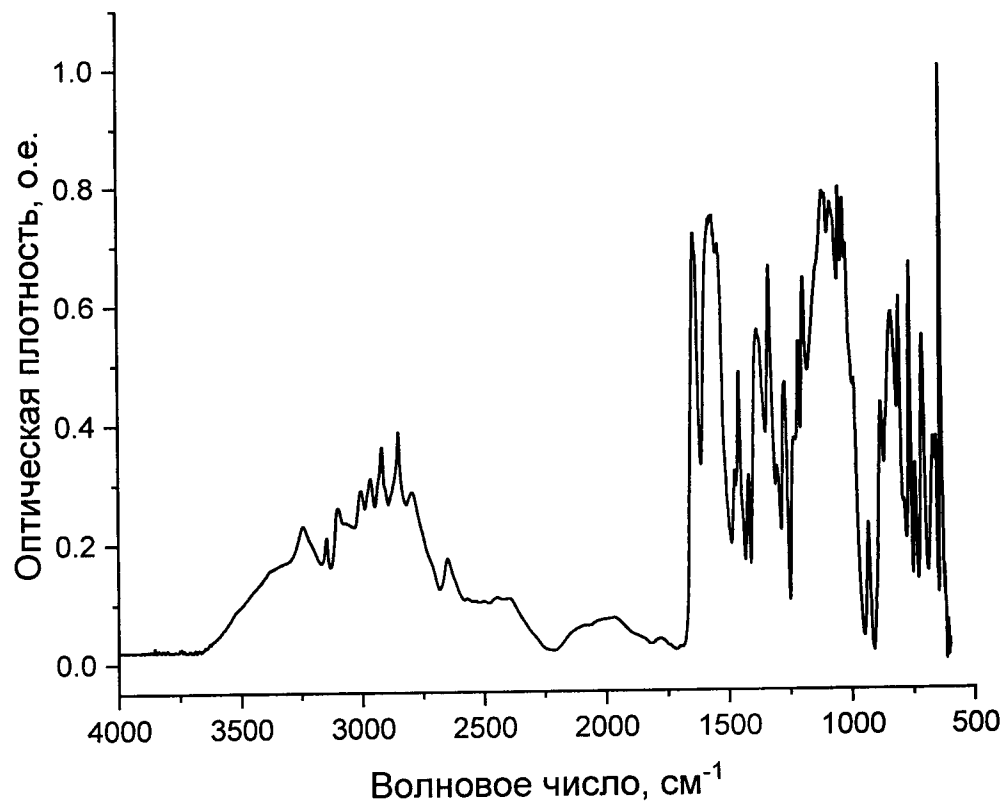
Фиг. 5

6/8



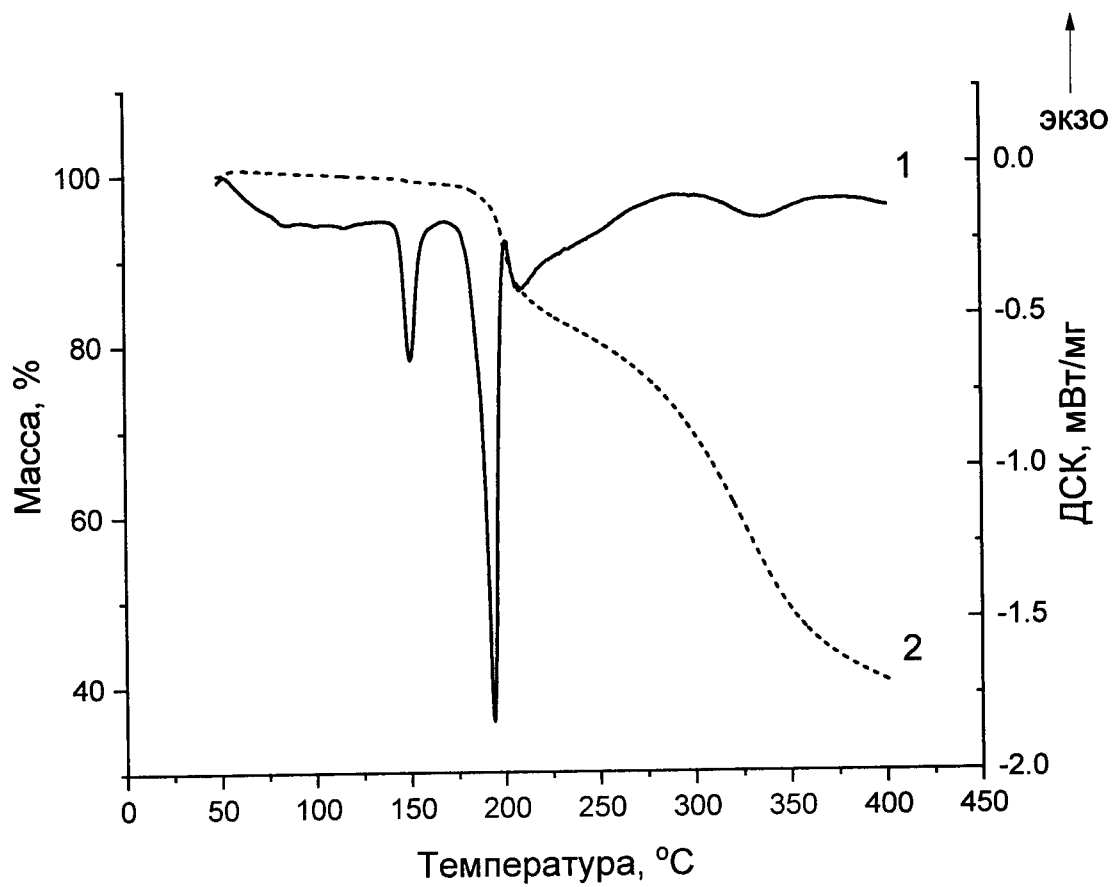
Фиг. 6

7/8



Фиг. 7

8/8



Фиг. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2023/000038

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/415 (2006.01) C07D 233/64 (2006.01) A61P 31/16 (2006.01) A61P 11/04 (2006.01)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, C07D, A61P

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

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

ESPACE NET, Google, Google Patents, PatSearch, RUPTO, USPTO

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 105418512 A (JIANGSU CHIA TAI FENGHAI PHARMACEUTICAL CO LTD), 23.03.2016, examples 6-7, the claims	1-12
Y	CN 103382179 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 06.11.2013, examples, the claims	1-14
Y	M.R.CAIRA. Crystalline polymorphism of organic compounds, TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1998, v.198, p.163-208, doi: 10.1007/3-540-69178-2_5, p.164-166	1-12
Y	SHERRY L. MORISETTE et al. High-through put crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. Advanced drug delivery reviews, 2004, v.56, pp.275-300, section "Introduction"	1-12
Y	EA 007934 B1 (FARMATSIYA KORPOREYSHN), 27.02.2007, p.4, description section "Podrobnoe opisaniye izobreteniya"	1-12
Y	WO 2015/108440 A1 (OBSSHCHESTVO S OGRANICHENNOY OTVETSTVENNOST'YU «VALENTA-INTELLEKT»), 23.07.2015, abstract, p.16 lines 2-5	1-12
Y	RU 2430092 C2 (BERINGER INGEL'KHAYM INTERNATSIONAL' GMBKH), 27.09.2011, examples	13-14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 May 2023 (16.05.2023)

Date of mailing of the international search report

15 June 2023 (15.06.2023)

Name and mailing address of the ISA/
RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки
PCT/RU 2023/000038

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (см. дополнительный лист)
Согласно Международной патентной классификации МПК
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)
A61K, C07D, A61P
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки
Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
ESPACENET, Google, Google Patents, PatSearch, RUPTO, USPTO

C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	CN 105418512 A (JIANGSU CHIA TAI FENGHAI PHARMACEUTICAL CO LTD), 23.03.2016, примеры 6-7, формула изобретения	1-12
Y	CN 103382179 A (SICHUAN BAILI PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 06.11.2013, примеры, формула изобретения	1-14
Y	M.R.CAIRA. Crystalline polymorphism of organic compounds, TOPICS IN CURRENT CHEMISTRY, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1998, v.198, p.163-208, doi: 10.1007/3-540-69178-2_5, с.164-166	1-12
Y	SHERRY L. MORISSETTE et al. High-through put crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. Advanced drug delivery reviews, 2004, v.56, pp.275-300, раздел "Introduction"	1-12
Y	EA 007934 B1 (ФАРМАЦИЯ КОРПОРЕЙШН), 27.02.2007, с.4, раздел описания "Подробное описание изобретения"	1-12
Y	WO 2015/108440 A1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ»), 23.07.2015, реферат, с.16 строки 2-5	1-12
Y	RU 2430092 C2 (БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ), 27.09.2011, примеры	13-14

<input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C.	<input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении
* Особые категории ссылочных документов:	"T" более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение
"A" документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным	"X" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности
"D" документ, цитируемый заявителем в международной заявке	"Y" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста
"E" более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее	"&" документ, являющийся патентом-аналогом
"L" документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)	
"O" документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.	
"P" документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета	

Дата действительного завершения международного поиска 16 мая 2023 (16.05.2023)	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске 15 июня 2023 (15.06.2023)
Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., д. 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-3, 125993, Российская Федерация тел. +7(499)240-60-15, факс +7(495)531-63-18	Уполномоченное лицо: Горбатовская М.Е. Телефон № (8-499) 240-25-91

A61K 31/415 (2006.01)

C07D 233/64 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

A61P 11/04 (2006.01)