

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **033614**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.11

(51) Int. Cl. **A61K 47/40** (2006.01)

(21) Номер заявки
201491994

(22) Дата подачи заявки
2013.05.08

(54) СПОСОБЫ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ПЕПТИДНЫХ ПРОТЕАСОМНЫХ ИНГИБИТОРОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СОСТАВЫ

(31) **61/644,122; 61/777,475**

(56) WO-A1-2006063154
US-A-5831081
US-A1-20090105156

(32) **2012.05.08; 2013.03.12**

(33) **US**

(43) **2015.04.30**

(86) **PCT/US2013/040127**

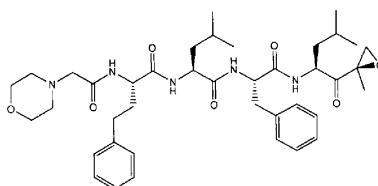
(87) **WO 2013/169897 2013.11.14**

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

(72) Изобретатель:
**Льюис Иван, Швонек Питер, Далзил
Шон, Джумаа Муханнад (US)**

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

(57) Изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции, включающему следующие стадии: (i) смешивание (a) соединения



или его фармацевтически приемлемой соли; (b) циклодекстрина, содержащего менее чем 0,05% мас./мас. хлоридной соли (циклодекстрин с низким содержанием хлорида); (c) воды для получения первой комбинации, которая является гетерогенной; (ii) приведение в контакт первой комбинации с органической кислотой для получения второй комбинации; (iii) перемешивание второй комбинации для получения гомогенной третьей комбинации; (iv) необязательно стерильное фильтрование третьей комбинации; и лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата. Такие способы значительно увеличивают растворимость и стабильность данных протеасомных ингибиторов и облегчают как их изготовление, так и их введение.

033614 B1

033614 B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По данной заявке испрашивается приоритет согласно предварительной заявке США № 61/644122, поданной 8 мая 2012 г., и предварительной заявке США № 61/777475, поданной 12 марта 2013 г., которые полностью включены в настоящее описание путем ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к способам комплексообразования с циклодекстринами для составления композиций, содержащих один или несколько пептидных протеасомных ингибиторов и циклодекстринов или смесь циклодекстринов, в частности замещенные циклодекстрины. Такие способы значительно увеличивают растворимость и стабильность данных протеасомных ингибиторов и облегчают как их производство, так и введение.

Предпосылки создания изобретения

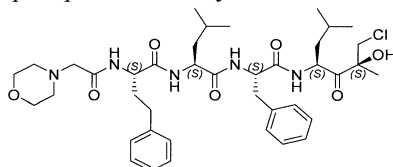
Протеасома была признана в качестве терапевтической мишени, что было продемонстрировано выданным FDA разрешением на применение бортезомиба, протеасомного ингибитора на основе бороновой кислоты, для лечения различных раковых заболеваний, включая множественную миелому. Однако недавно были описаны другие более высокоспецифичные к протеасоме ингибиторы, которые могли бы иметь меньшие токсичные побочные эффекты. Эти соединения включают в себя пептидные эпоксикетоны, такие как эпоксомидин, описанный в патенте США № 6831099, содержание которого таким образом включено путем ссылки, и соединения, описанные в патенте США № 7232818, содержание которого таким образом включено путем ссылки. Однако низкая растворимость в воде некоторых из этих соединений создает трудности в составлении композиций с достаточно высокой концентрацией, для того чтобы обеспечить возможность введения на практике с желаемыми антинеопластическими или другими фармакологическими эффектами. Поэтому необходимы дополнительные способы введения пептидных эпоксикетонов в фармацевтические составы.

Краткое изложение сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к способам комплексообразования с циклодекстринами для введения пептидного протеасомного ингибитора в фармацевтический состав (например, соединения, имеющего формулу (1)-(5), или его фармацевтически приемлемой соли) с одним или несколькими циклодекстринами. Было показано, что многие пептидные протеасомные ингибиторы имеют низкую растворимость в воде. Эту низкую растворимость можно преодолеть посредством образования комплексов соединения с одним или несколькими циклодекстринами, используя способы по настоящему изобретению. Например, можно получить гомогенные растворы соединения формулы (5) (карфилзомиб) при фармацевтически подходящем pH (например, около 3,5) и при более высоких концентрациях (например, около 5 мг/мл), чем которые можно было бы получить без одного или нескольких циклодекстринов и способов образования комплексов между соединением и одним или несколькими циклодекстринами по настоящему изобретению. В дополнение к увеличению растворимости пептидного протеасомного ингибитора в растворе составы, полученные способами по настоящему изобретению, дают в результате фармацевтические растворы, имеющие удивительную стабильность. Стабильность находящегося в комплексе ингибитора выражается в отсутствии образования осадка из гомогенного раствора находящегося в комплексе ингибитора в течение продолжительных периодов времени и при температурных стрессах. Например, находящийся в комплексе ингибитор может оставаться растворимым в течение периодов времени и при температурных стрессах, превышающих таковые в случае практического применения изготовленных в асептических условиях фармацевтических продуктов для инъекций. Хотя не ожидалось, что высокие концентрации, достигаемые способами получения по настоящему изобретению, будут термодинамически стабильными, было показано, что на физическую стабильность растворов не оказывали влияния температура хранения (например, растворы могут быть стабильными при температуре от -20 до 25°C), циклы замораживания-размораживания, а также лиофилизация и восстановление. Стабильность сверхнасыщенных растворов, находящихся в комплексе пептидного протеасомного ингибитора и одного или нескольких циклодекстринов, достаточна, чтобы переносить изменение pH после комплексообразования без выпадения осадка. Например, проведение комплексообразования в диапазоне pH 2,5-3, затем титрование pH раствором гидроксида натрия до pH 3,5. Физическая стабильность раствора позволяет использовать находящееся в комплексе вещество в диапазоне pH, приемлемом для инъекций и других фармацевтических целей, а также проявлять стабильность в диапазоне pH, в котором получают подходящие химическую стабильность и срок хранения. Соответственно фармацевтические композиции, полученные способами по настоящему изобретению, могут представлять собой сверхнасыщенные растворы, которые не выпадают в осадок, или их концентрация не снижается в значительной степени в течение их использования в любом числе вариантов медицинского применения (например, большой объем раствора в ходе изготовления стерильного продукта может не выпадать в осадок в течение нескольких дней после стерильной фильтрации, пока он находится в стерильной емкости-хранилище для заполнения ампул). Аналогичным образом, конечные восстановленные фармацевтические композиции могут быть стабильны в диапазоне от часов до дней, что облегчает их использование в качестве лекарственных агентов.

В дополнение к получению стабильных высококонцентрированных растворов пептидных протеасомных ингибиторов составы, приготавливаемые способами комплексообразования по настоящему изобретению,

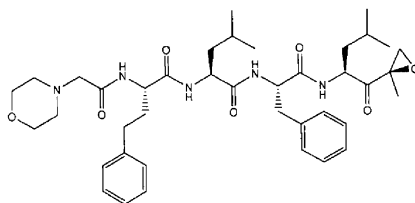
бретению, можно получить без химической деградации и ограничений по стабильности, присущих другим способам приготовления фармацевтических составов. Например, в способах по настоящему изобретению отсутствует применение сильных кислот (например, HCl) для снижения pH в ходе комплексообразования. Хотя снижение pH состава до показателя меньше 2 может способствовать растворению пептидного протеасомного ингибитора и давать гомогенный раствор до образования комплексов, кислотность раствора может привести к деградации пептидного протеасомного ингибитора. Например, в случае пептидного протеасомного ингибитора карфилзомиба применение сильной кислоты, такой как HCl, может привести к гидролизу фармакологического эпоксида, и посредством нуклеофильной атаки хлорид-ионами привести к образованию хлоргидринового аддукта в качестве деградирующего агента (CDP)



Исходя из его структуры этот деградирующий агент можно отнести к алкилирующему агенту, который представляет собой класс соединений, рассматриваемых FDA в качестве потенциальной генотоксичной примеси. Важно отметить, что с точки зрения регламентированной безопасности продукта использование способов по настоящему изобретению позволяет избежать применения сильных кислот, и поэтому реакции деградации пептидного протеасомного ингибитора до таких соединений могут быть значительно снижены и в некоторых случаях даже исключены.

Один аспект относится к способу получения фармацевтической композиции, включающему следующие стадии:

- (i) смешивание:
- (a) соединения



или его фармацевтически приемлемой соли;

(b) циклодекстрина, содержащего менее чем 0,05% мас./мас. хлоридной соли (циклодекстрин с низким содержанием хлорида); и

(c) воды

для получения первой комбинации, которая является гетерогенной;

(ii) приведение в контакт первой комбинации с органической кислотой для получения второй комбинации;

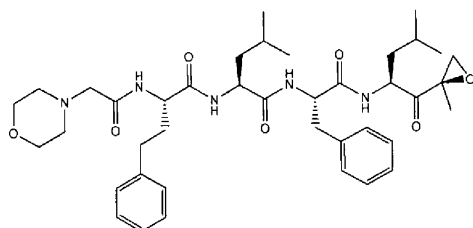
(iii) перемешивание второй комбинации для получения гомогенной третьей комбинации;

(iv) стерильное фильтрование третьей комбинации и лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата.

Другой аспект изобретения относится к способу получения фармацевтической композиции, включающему:

(i) смешивание:

(a) соединения



или его фармацевтически приемлемой соли;

(b) сульфобутилового простого эфира бета-циклодекстрина, содержащего менее чем 0,05% мас./мас. хлоридной соли (SBECD с низким содержанием хлорида); и

(c) воды для инъекций

для получения первой комбинации, которая является гетерогенной;

(ii) смешивание первой комбинации с водным раствором лимонной кислоты для получения второй комбинации;

(iii) перемешивание второй комбинации для получения гомогенной третьей комбинации и

(iv) лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата.

Варианты осуществления изобретения могут включать один или несколько из следующих признаков.

Первая комбинация не включает значимых количеств никаких органических растворителей. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация не включает никакого количества или никакого типа органических растворителей, описанных в патентах США 7232818, и/или 7417042, и/или 7737112, и/или US-2009-0105156, и/или US-2011-0236428, каждый из которых включен в настоящее описание путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация свободна от любых органических растворителей (например, содержит меньше 5%, меньше 4%, меньше 3%, меньше 2%, меньше 1% (мас./мас. или мас./об.) любых органических растворителей). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация, по существу, свободна от любых органических растворителей (например, содержит меньше 0,5%, меньше 0,2%, меньше 0,1%, меньше 0,05% (мас./мас. или мас./об.) любых органических растворителей). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация не включает детектируемого количества никаких органических растворителей.

Первая комбинация не включает значимых количеств никаких буферов. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация не включает никакого количества или никакого типа любых буферов, описанных в патентах США 7232818, и/или 7417042, и/или 7737112, и/или US-2009-0105156, и/или US-2011-0236428, каждый из которых включен в настоящее описание путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация свободна от любых буферов (например, содержит меньше 5%, меньше 4%, меньше 3%, меньше 2%, меньше 1% (мас./мас. или мас./об.) любых буферов). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация, по существу, свободна от любых буферов (например, содержит меньше 0,5%, меньше 0,2%, меньше 0,1%, меньше 0,05% (мас./мас. или мас./об.) любых буферов). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация не включает детектируемого количества никаких буферов.

Вторая комбинация включает комплекс соединения и одного или нескольких циклодекстринов.

Кислоту добавляют в виде водного раствора.

По меньшей мере одним или несколькими циклодекстринами являются HPBCD или SBECD (например, SBECD).

Авторы изобретения открыли, что может быть предпочтительно минимизировать количество хлорид-иона (или других нуклеофильных анионов) в способах и фармацевтических композициях, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один или несколько циклодекстринов (добавленных к первой комбинации) является циклодекстрином с низким содержанием хлорида. В контексте настоящего изобретения "циклодекстрин с низким содержанием хлорида" относится к хлоридсодержащему циклодекстрину, содержащему 0,05% мас./мас. или меньше хлорида натрия, или при наличии других (или дополнительных) источников хлорида натрия "циклодекстрин с низким содержанием хлорида" относится к хлоридсодержащему циклодекстрину, имеющему содержание хлорид-иона, меньшее или равное количеству хлорида, которое присутствовало бы в циклодекстрине, имеющем 0,05% мас./мас. хлорида натрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения циклодекстрином с низким содержанием хлорида является SBECD с низким содержанием хлорида. Концентрацию хлорида можно определить различными способами, известными в данной области (например, для приобретенных из коммерческих источников циклодекстранов - из спецификации продукта от производителя, например, с помощью гравиметрических методов, например с помощью потенциометрических методов).

В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один или несколько циклодекстринов (добавленных в первую комбинацию) не включают детектируемого количества хлорид-иона.

В некоторых вариантах осуществления изобретения количество присутствующего хлорид-иона (например, молярное соотношение хлорида и соединения) достаточно низкое для того, чтобы обеспечить срок хранения 2 года в условиях хранения при 2-8°C. В некоторых вариантах осуществления изобретения хлорид-ион присутствует, и количество присутствующего хлорид-иона достаточно низкое для того, чтобы обеспечить срок хранения 2 года в условиях хранения при 2-8°C.

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации не превышает 2,0. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации отличается от нуля, но меньше 2,0).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации не превышает 1,5. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации отличается от нуля, но меньше 1,5).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации не превышает 1,2. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации отличается от нуля, но меньше 1,2).

изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 1,0).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,9. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,9).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,8. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,8).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,7. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,7).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,6. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,6).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,5. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,5).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,4. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,4).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,3. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,3).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,2. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,2).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,1. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,1).

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции не включают детектируемого количества хлорид-иона.

Например, молярное соотношение хлорид-иона и соединения (например, в любом одном из следующего: первой комбинации, второй комбинации, третьей комбинации, фармацевтических композициях, полученных способами, описанным в настоящем документе) можно вычислить, как показано ниже, используя ампулу сухого порошка карфилзомиба ("CFZ") в качестве основы для вычисления:

Масса содержимого ампулы 3,212 г.

Масса CFZ=61,8 мг.

Максимальная масса хлорида (при 0,03% мас./мас. хлорид-иона)=0,0009636 г.

Максимальное количество хлорида= $2,714 \times 10^{-5}$ моль,

(атомная масса Cl=35,5).

Количество CFZ= $8,584 \times 10^{-5}$ моль,

(MW CFZ=719,9).

Молярное соотношение CI/CFZ в твердом веществе в ампуле=0,32.

Эти вычисления для первой комбинации также можно провести, используя, например, содержание хлорида циклодекстрана (и любого другого источника хлорид-ионов) и массу соединения, которое добавлено для создания первой комбинации.

Как может понять опытный специалист в данной области, ожидается, что это соотношение будет одинаковым в большом объеме исходного раствора, используемого для заполнения ампул (перед лиофилизацией), а также когда содержимое указанной ампулы с сухим порошком восстанавливают в стерильной воде для введения пациенту.

Предоставление первой комбинации (стадия (i)) включает в себя добавление соединения к раствору одного или нескольких циклодекстринов и воды.

Соединение представляет собой кристаллическое твердое вещество. В вариантах осуществления изобретения для кристаллической формы соединения порошковая рентгенограмма включает в себя от 2 до 8 характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ при 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 и 23,30.

Этот способ дополнительно включает смешивание первой комбинации до контакта первой комбинации с кислотой.

Стадии (i) и (ii) обе проводят в одном сосуде.

Способ дополнительно включает смешивание второй комбинации в течение времени, достаточного для получения гомогенной третьей комбинации.

Концентрация растворенного и находящегося в комплексе соединения в третьей комбинации составляет от 1 до 20 мг/мл.

Концентрация растворенного и находящегося в комплексе соединения в третьей комбинации составляет от 4 до 8 мг/мл.

pH третьей комбинации составляет от 2 до 4.

Способ дополнительно включает фильтрацию третьей комбинации.

Способ дополнительно включает лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата.

Способ дополнительно включает смешивание лиофилизата с фармацевтически приемлемым носителем.

Фармацевтически приемлемый носитель включает в себя стерильную воду для инъекций. В вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемый носитель дополнительно включает лимонную кислоту.

Если не указано иное, то все технические и научные термины, используемые в контексте настоящего изобретения, имеют такое же значение, которое понимает под ними специалист в области, к которой относится изобретение. Способы и материалы описаны в настоящем документе для применения в настоящем изобретении; также можно использовать другие подходящие способы и материалы, известные в данной области. Материалы, методы и примеры являются только иллюстративными, и не предполагается, что они ограничивают изобретение. Все публикации, патентные заявки, патенты, последовательности, данные из баз данных и другие ссылки, указанные в настоящем документе, полностью включены путем ссылки. В случае противоречий настоящее описание, включая определения, будет превалировать.

Другие признаки и преимущества изобретения будут очевидны из подробного описания и фигур, а также из формулы изобретения.

Описание фигур

На фиг. 1 представлен линейный график, показывающий комплексообразование CFZ-API с помощью SBECD во времени.

На фиг. 2 проиллюстрирована независимость фармацевтических композиций, полученных по настоящему изобретению, от физико-химических свойств (например, размера частиц) протеасомного ингибитора.

На фиг. 3 представлен линейный график, показывающий увеличение в солюбилизации CFZ-API с увеличением концентрации SBECD.

На фиг. 4 проиллюстрирована независимость растворимости комплекса CFZ-API/SBECD от температуры получения или хранения.

На фиг. 5 проиллюстрирована корреляция между уровнями хлоргидринового продукта деградации (CDP) и двухфакторного взаимодействия воды и содержания хлорида при pH 3,5.

На фиг. 6 проиллюстрирована растворимость карфилзомиба в SBECD при pH 1,5 и pH 3,5, 25°C и 5°C (5,9 мг/мл лимонной кислоты).

На фиг. 7 представлен линейный график, иллюстрирующий, что растворимость карфилзомиба в воде увеличивается в зависимости от концентрации SBE- β -CD. Вогнутый профиль фазовой растворимости может классифицироваться как Ап-тип комплексообразования. Начало с низкого pH значительно увеличивает растворимость, тогда как температура имеет незначительный эффект (см. пример 5).

На фиг. 8 представлен график, который иллюстрирует данные солюбилизации для карфилзомиба во время приготовления смеси в зависимости от времени при значениях pH 1,5 и 3 (при 5°C), а также 5%

этанол (см. пример 5).

На фиг. 9 представлен график, который иллюстрирует молярную концентрацию растворенного карфилзомиба в зависимости от свободного циклодекстрина, индексированного по комплексообразованию.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способам комплексообразования с циклодекстринами для введения пептидных протеасомных ингибиторов (например, соединения формулы (1)-(5) или его фармацевтически приемлемой соли) в фармацевтические составы с циклодекстрином. Также изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим пептидный протеасомный ингибитор и циклодекстрин, причем композиция содержит хлорид-ион, как описано где-либо в настоящем документе (например, композиция получена с использованием циклодекстрина с низким содержанием хлорида; например, молярное соотношение хлорид-иона и соединения составляет 0,32). В некоторых вариантах осуществления изобретения составы, имеющие низкое содержание хлорид-иона, как описано в настоящем документе, могут приводить в результате к снижению образования нежелательных продуктов деградации.

Определения

Термин "буфер" относится к веществу, которое своим присутствием в растворе повышает количество кислоты или щелочи, которое должно быть добавлено для изменения pH на единицу. Таким образом, буфер представляет собой вещество, которое помогает регулировать pH композиции. Как правило, выбор буфера обусловлен целевым pH и совместимостью с другими компонентами композиции. В общем, буфер имеет pKa, который не более чем на 1 единицу ниже или выше целевого pH композиции (или получаемого после растворения композиции).

Используемый в настоящем документе термин "вода" относится к жидкому раствору H₂O, имеющему pH приблизительно 7,0.

В некоторых вариантах осуществления соединения по настоящему изобретению или их соли являются, по существу, выделенными или очищенными. Под "по существу, выделенными" понимается, что соединение, по меньшей мере, частично или, по существу, отделено от окружения, в котором оно появилось или было детектировано. Частичное отделение может включать, например, композицию, обогащенную соединениями по настоящему изобретению. Существенное отделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 97% или по меньшей мере примерно 99 вес.% соединений или их солей. Способы выделения соединений или их солей являются рутинными в данной области.

Используемый в настоящем документе термин "пептид" относится к цепи аминокислот, длина которой составляет от примерно 2 до примерно 10 аминокислот.

Используемый в настоящем документе термин "природная" или "встречающаяся в природе" аминокислота относится к одной из 20 наиболее распространенных аминокислот. Природные аминокислоты указывают с помощью стандартных однобуквенных или трехбуквенных сокращений.

Используемый в настоящем документе термин "комплексообразование" относится к образованию межмолекулярного комплекса включения или межмолекулярной ассоциации в растворе и между одним или несколькими пептидными протеасомными ингибиторами и молекулами одного или нескольких циклодекстринов. Включение и/или ассоциация обеспечивает выгоду вследствие механизма значительного увеличения концентрации ингибитора(ов), которое можно достигнуть в водном растворе, по сравнению с растворением в водной фазе в аналогичном диапазоне pH без комплексообразующего агента (то есть молекул одного или нескольких циклодекстринов). В некоторых вариантах осуществления соотношение циклодекстрина (например, SBECd, например, из источника циклодекстрина с низким содержанием хлорида, например, SBECd с низким содержанием хлорида) и ингибитора (например, карфилзомиба) составляет 1:1. В других вариантах осуществления изобретения более чем один циклодекстран (например, каждый из которых независимо выбран из SBECd, циклодекстрина с низким содержанием хлорида и SBECd с низким содержанием хлорида) может образовывать комплексы с конкретным ингибитором (например, 2, 3, 4, 5 или 6, например, 2 или 3 циклодекстрана (например, каждый из которых независимо выбран из SBECd, циклодекстрина с низким содержанием хлорида и SBECd с низким содержанием хлорида) может образовывать комплексы с конкретным ингибитором (например, карфилзомибом)). В некоторых вариантах осуществления изобретения соотношение циклодекстрина (например, SBECd, например, из источника циклодекстрина с низким содержанием хлорида, например, SBECd с низким содержанием хлорида) и ингибитора (например, карфилзомиба) составляет от 1 до 5 к 1 (например, 1-4:1, 1-3:1, 1-2:1, 2-5:1, 2-4:1, 2-3:1). Соотношения компонентов при комплексообразовании могут быть определены с использованием, например, способов, описанных в данном документе.

Подразумевается, что используемый в настоящем документе термин "протеасома" включает иммуно- и конститутивные протеасомы.

Подразумевается, что используемый в настоящем документе термин "ингибитор" описывает соединение, которое блокирует или уменьшает активность фермента или системы ферментов, рецепторов или другой фармакологической мишени (например, ингибирует протеолитическое расщепление стандартных

флюорогенных пептидных субстратов, таких как suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC и Z-LLE-AMC, ингибирует различные каталитические активности 20S-протеасомы). Ингибитор может действовать путем конкурентного, антиконкурентного или неконкурентного ингибирования. Ингибитор может связываться обратимо или необратимо, и поэтому термин включает соединения, которые представляют собой губительные для фермента субстраты. Ингибитор может модифицировать один или несколько участков в действующем сайте фермента (или вблизи него) или он может вызвать конформационное изменение в другом участке фермента. В контексте настоящего изобретения термин ингибитор используется в более широком смысле, чем в научной литературе, таким образом, он также охватывает другие классы фармакологически или терапевтически полезных агентов, таких как агонисты, антагонисты, стимуляторы, кофакторы и т.п.

В контексте настоящего изобретения "низкая растворимость" относится к плохо растворимым, низко растворимым, чрезвычайно низко растворимым, практически нерастворимым или нерастворимым, например, в воде или другом растворе (например, первой комбинации); значение терминов "плохо растворимое, низко растворимое, чрезвычайно низко растворимое, практически нерастворимое или нерастворимое" соответствует значению общих терминов в фармакопее США (USP) для приблизительного выражения растворимости (см., например, DeLuca and Boylan, в *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, vol. 1, Avis, K.E., Lackman, L. and Lieberman, H.A., eds; Marcel Dekkar: 1084, pages 141-142:

USP-термин	Относительное количество растворителя для растворения 1 части растворяемого вещества
плохо растворимое	30-100
низко растворимое	100-1000
чрезвычайно низко растворимое	1000-10000
практически нерастворимое или нерастворимое	>10000

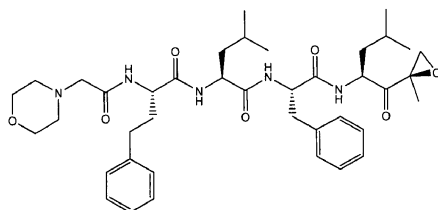
В контексте настоящего изобретения "гетерогенный" относится к раствору с неоднородной (полифазной) композицией. Например, гетерогенный раствор может включать суспензию твердых частиц в жидкости (например, взвесь).

В контексте настоящего изобретения "гомогенный" относится к раствору, который постоянен или однороден по всему своему объему (единственная фаза, наблюдаемая как прозрачный раствор).

Соединения.

Настоящее изобретение относится к способам получения составов пептидных протеасомных ингибиторов, которые имеют низкую растворимость в воде.

В настоящем изобретении пептидным протеасомным ингибитором является соединение формулы (5)



или его фармацевтически приемлемая соль.

Соединение формулы (5) также известно как карфилзомиб.

Любое из соединений, описанных в настоящем документе, можно выделить в аморфной или кристаллической форме. Получение и очистку кристаллических соединений, приведенных в настоящем документе, можно осуществить методами, известными в данной области, например, описанными в патентной публикации США № 2009/0105156, полное содержание которой включено в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) является, по существу, чистым. В некоторых вариантах осуществления изобретения точка плавления кристаллического соединения формулы (5) находится в диапазоне от примерно 200 до примерно 220°C, от примерно 205 до примерно 215°C, от примерно 211 до примерно 213°C или даже составляет примерно 212°C. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) может иметь точку плавления от примерно 205 до примерно 215°C. Например, соединение может иметь точку плавления от примерно 211 до примерно 213°C. В некоторых вариантах осуществления изобретения DSC кристаллического соединения формулы (5) имеет острый эндотермический максимум примерно при 212°C, например, в результате плавления и разложения кристаллической формы соединения.

Порошковая рентгенограмма кристаллического соединения формулы (5) имеет характеристические дифракционные пики, выраженные в градусах 2θ (2θ). Например, кристаллическое соединение фор-

мулы (5) может иметь характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 6,10. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 9,32. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 10,10. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 12,14. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 13,94. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 18,44. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 20,38. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , при 23,30. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, содержащую от 2 до 8 характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ , при 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 и 23,30. Например, кристаллическое соединение формулы (5) может иметь порошковую рентгенограмму, содержащую характеристические пики, выраженные в градусах 2θ , при 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 и 23,30.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 6,1. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 9,3. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 10,1. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 12,1. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 13,9. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 18,4. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 20,4. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет характеристический пик, выраженный в градусах 2θ , примерно при 23,3. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, содержащую от 2 до 8 характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ , примерно при 6,1, 9,3, 10,1, 12,1, 13,9, 18,4, 20,4 и 23,3. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, содержащую характеристические пики, выраженные в градусах 2θ , примерно при 6,1, 9,3, 10,1, 12,1, 13,9, 18,4, 20,4 и 23,3.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, имеющую характеристические пики, выраженные в градусах 2θ , при 6,10; 8,10; 9,32; 10,10; 11,00; 12,14; 12,50; 13,64; 13,94; 17,14; 17,52; 18,44; 20,38; 21,00; 22,26; 23,30; 24,66; 25,98; 26,02; 27,84; 28,00; 28,16; 29,98; 30,46; 32,98; 33,22; 34,52 и 39,46.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, имеющую характеристические пики, выраженные в градусах 2θ , при 6,1; 8,1; 9,3; 10,1; 11,0; 12,1; 12,5; 13,6; 13,9; 17,1; 17,5; 18,4; 20,4; 21,0; 22,3; 23,3; 24,7; 25,9; 26,0; 27,8; 28,0; 28,2; 30,0; 30,5; 33,0; 33,2; 34,5 и 39,5.

Анализ порошковой рентгеновской дифракции (XRPD) проводили, используя порошковый рентгеновский дифрактометр Shimadzu 30 XRD-6000, с использованием излучения $\text{CuK}\alpha$. Инструмент оборудован длинной тонкофокусной рентгеновской трубкой. Напряжение и сила тока трубки были установлены на 40 кВ и 40 мА соответственно. Щели расхождения и рассеяния были установлены на 1° , принимающая щель была установлена на 0,15 мм. Дифрагированное излучение определяли с помощью сцинтилляционного детектора NAI. Использовали непрерывную развертку θ - 2θ при $3^\circ/\text{мин}$ ($0,4 \text{ с}/0,02^\circ$) от $2,5$ до 40° 2θ . Кремниевый стандарт анализировали для проверки настройки прибора. Данные собирали и анализировали, используя программу XRD-6100/7000, версия 5.0. Образцы подготавливали для анализа, помещая их в алюминиевый держатель с кремниевой вставкой.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединением формулы (5) является кристаллическая соль соединения формулы (5). Например, кристаллическую соль соединения формулы (5) можно выбрать из группы, состоящей из цитратной, тартратной, трифторацетатной, метансульфонатной, толуолсульфонатной, гидрохлоридной и гидробромидной солей. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллической солью соединения формулы (5) является цитратная соль. В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое твердое вещество может присутствовать в виде кристалла.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическая цитратная соль соединения формулы (5) является, по существу, чистой. В некоторых вариантах осуществления изобретения точка плавления кристаллической цитратной соли соединения формулы (5) находится в диапазоне от примерно 180 до примерно 190°C, например от примерно 184 до примерно 188°C. В некоторых вариантах осуществления изобретения DSC кристаллической цитратной соли соединения формулы (5) имеет острый эндотермический максимум примерно при 187°C, например, в результате плавления и разложения кристаллической формы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кристаллическое соединение формулы (5) имеет порошковую рентгенограмму, содержащую два или несколько характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ , при 4,40; 7,22; 9,12; 12,36; 13,35; 14,34; 15,54; 16,14; 16,54; 17,00; 18,24; 18,58; 19,70; 19,90; 20,30; 20,42; 21,84; 22,02; 23,34; 23,84; 24,04; 24,08; 24,48; 24,76; 25,48; 26,18; 28,14; 28,20; 28,64; 29,64; 31,04; 31,84; 33,00; 33,20; 34,06; 34,30; 34,50; 35,18; 37,48; 37,90 и 39,48. Например, кристаллическое соединение формулы (5) может иметь порошковую рентгенограмму, имеющую характеристические пики, выраженные в градусах 2θ , при 4,40; 7,22; 9,12; 12,36; 13,35; 14,34; 15,54; 16,14; 16,54; 17,00; 18,24; 18,58; 19,70; 19,90; 20,30; 20,42; 21,84; 22,02; 23,34; 23,84; 24,04; 24,08; 24,48; 24,76; 25,48; 26,18; 28,14; 28,20; 28,64; 29,64; 31,04; 31,84; 33,00; 33,20; 34,06; 34,30; 34,50; 35,18; 37,48; 37,90 и 39,48.

Фармацевтические композиции

Способы по настоящему изобретению включают изготовление и применение фармакологических композиций, которые включают любое из соединений по настоящему изобретению. Также включены сами фармацевтические композиции.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения по настоящему изобретению можно ввести в фармацевтический состав, как описано в патенте США № 7737112.

Также настоящее изобретение относится к способам комплексообразования с циклодекстрином для получения фармацевтической композиции пептидного протеасомного ингибитора (например, соединения формулы (1)-(5) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата, сокристалла или полиморфной формы). Способ включает в себя предоставление первой комбинации, включающей пептидный протеасомный ингибитор, один или несколько циклодекстринов и воду, причем первая комбинация является гетерогенной, а пептидный протеасомный ингибитор или его соль имеют низкую растворимость в первой комбинации. Способ дополнительно включает изменение pH первой комбинации для образования второй комбинации, причем растворимость пептидного протеасомного ингибитора во второй комбинации выше растворимости пептидного протеасомного ингибитора в первой комбинации.

Например, способ может включать контактирование первой комбинации с кислотой с образованием второй комбинации. Вторая комбинация все еще может быть гетерогенной, но все еще может способствовать значительному увеличению растворимости, так что процесс комплексообразования может иницироваться и продолжаться. Это обеспечивает возможность включения в комплексы большинства ингибитора в состоянии гетерогенной смеси посредством частичного комплексообразования или полного включения в комплексы с образованием гомогенного раствора. В случае гетерогенной смеси комплексов после достижения желаемой степени солюбилизации и комплексообразования избыточное твердое вещество можно отфильтровать, получая гомогенный раствор.

Используемый в настоящем документе термин "комплексообразование" относится к образованию межмолекулярного комплекса включения или межмолекулярной ассоциации в растворе и между одним или несколькими пептидными протеасомными ингибиторами и молекулами одного или нескольких циклодекстринов. Включение и/или ассоциация обеспечивает выгоду вследствие механизма значительного увеличения концентрации ингибитора(ов), которое можно достигнуть в водном растворе, по сравнению с растворением в водной фазе в аналогичном диапазоне pH без комплексообразующего агента (то есть молекул одного или нескольких циклодекстринов). В некоторых вариантах осуществления соотношение циклодекстрина (например, SBECD, например, из источника циклодекстрина с низким содержанием хлорида, например, SBECD с низким содержанием хлорида) и ингибитора (например, карфилзомиба) составляет 1:1. В других вариантах осуществления изобретения более чем один циклодекстран (например, каждый независимо выбран из SBECD, циклодекстрина с низким содержанием хлорида и SBECD с низким содержанием хлорида) может образовывать комплексы с конкретным ингибитором (например, 2, 3, 4, 5 или 6, например, 2 или 3 циклодекстрана (например, каждый из которых независимо выбран из SBECD, циклодекстрина с низким содержанием хлорида и SBECD с низким содержанием хлорида) может образовывать комплексы с конкретным ингибитором (например, карфилзомибом)). В некоторых вариантах осуществления изобретения соотношение циклодекстрина (например, SBECD, например, из источника циклодекстрина с низким содержанием хлорида, например, SBECD с низким содержанием хлорида) и ингибитора (например, карфилзомиба) составляет 1-5:1 (например, 1-4:1, 1-3:1, 1-2:1, 2-5:1, 2-4:1, 2-3:1). Соотношения компонентов при комплексообразовании могут быть определены с использованием, например, способов, описанных в данном документе.

Присутствие в комплексе или ассоциированное состояние очевидно, когда концентрация ингибитора(ов) поддается измерению посредством соответствующего способа анализа, такого как ВЭЖХ, и кон-

концентрация существенно превышает достижимую посредством растворения ингибитора(ов) в воде в отсутствие циклодекстрина(ов). Раствор находящихся в комплексе или ассоциированных ингибитора(ов) и циклодекстрина(ов) можно получить, для того чтобы превысить концентрацию в водном растворе при отсутствии циклодекстрина(ов), что выгодно для изготовления лекарственного препарата со стандартными объемом для инъекций и вводимой дозой. Кроме того, раствор находящихся в комплексе или ассоциированных ингибитора(ов) обладает физической стабильностью (или иначе метастабильностью), когда ингибитор остается в гомогенном растворе (без образования частиц твердого вещества в результате выпадения осадка или кристаллизации) в течение длительных периодов времени относительно типичного поведения растворов ингибитора в отсутствие циклодекстрина. Вследствие данного продолжительного существования в виде прозрачного раствора образование центров кристаллизации и последующее истощения перенасыщения не происходит при всех условиях применения на практике в качестве лекарственного состава. Индексирующий подход, описанный в настоящем документе, может использоваться для моделирования и определения соотношений циклодекстрина и ингибитора.

Многие низкомолекулярные лекарственные соединения имеют pH-зависимую растворимость. Часто случается, что диапазон pH, подходящий для введения лекарственного соединения (например, с помощью инъекции, когда допустимым, как правило, считается диапазон pH 3-10,5 для внутривенного введения), не совпадает с pH, при котором достигается достаточная растворимость лекарственного соединения в воде (например, равно или ниже pH 2). Для того чтобы обеспечить фармацевтически пригодный уровень концентраций лекарственных соединений в растворе при диапазоне pH, приемлемом и подходящем для введения (например, с помощью инъекций), практическим способом является образование комплексов или ассоциация лекарственного соединения с циклодекстрином(ами) по настоящему изобретению. С помощью данного способа можно увеличивать концентрацию в растворе в диапазоне pH, подходящем для введения. Такое увеличение концентрации, например, могло бы составлять от первоначальной концентрации 1-100 мг/мл без циклодекстрина (ов), увеличиваясь до 500-10000 мг/мл с циклодекстрином(ами). Таким образом, комплексообразование или ассоциация представляют собой технологию, которая обеспечивает возможность достаточной степени солюбилизации соединения (в ином случае плохо растворимого в воде) и получения его в качестве соединения, пригодного для фармацевтических целей. Опытные специалисты в данной области поймут, что количество циклодекстрина(ов), необходимое для достижения желаемой концентрации и состояния физической стабильности, может варьировать. Соответственно количество циклодекстрина можно определить исходя из конкретной комбинации, используя хорошо известные способы.

Для основных молекул лекарственных соединений растворимость обычно увеличивается с понижением pH. В некоторых случаях это также представляет собой проблему в отношении стабильности и срока годности при использовании без комплексообразующих или образующих ассоциации агентов, таких как циклодекстрин(ы). Например, достаточную растворимость можно обеспечить снижением pH раствора с помощью кислоты, однако такое снижение pH может привести к реакциям деградации в кислых условиях. В табл. 1 приведены данные фактической растворимости в воде карфилзомиба, показывающие некоторое увеличение растворимости с понижением pH.

Таблица 1	
Зависимость растворимости карфилзомиба в воде от pH раствора без циклодекстринов	
Растворитель	Растворимость (мг/мл)
Вода	0,002
Вода/pH 5	0,002
Вода/pH 3	0,02
Вода/pH 1	1,8

Для низкомолекулярных лекарственных соединений и биомолекул существует множество реакционных путей кислотной деградации, таких как гидролиз амидов до меньших по размеру неактивных пептидных фрагментов или гидролитическое раскрытие функционально-активных эпоксидных групп. У продуктов кислотной деградации может отсутствовать фармакологическая активность, и они могут представлять собой токсичные или генотоксичные соединения даже в следовых количествах. Включение в комплексы или в ассоциированное состояние при pH, позволяющем избежать значительной деградации, дополнительно расширяет область применения циклодекстринов в клинических и коммерческих разработках соединений, которые имеют характеристики стабильности, зависящие от pH.

Для того чтобы сбалансировать конкурирующие требования исключения опосредованных кислотой побочных реакций деградации, которые возникают при низком pH, с увеличением степени комплексообразования при снижении pH, был найден уникальный диапазон pH. Как ни удивительно, было найдено, что pH водного раствора, получаемый посредством добавления некоторых концентраций кислот, например лимонной кислоты (около pH 2,5-3,0), является достаточным для снижения pH, чтобы инициировать комплексообразование, не вызывая при этом значительного уровня побочных реакций деградации. В

этом состоянии ингибитор частично солюбилизирован действием pH, но не полностью. В результате, существует гетерогенная смесь (например, взвесь) ингибитора, частично растворенного в водном растворе циклодекстрина и лимонной кислоты и частично присутствующего в виде твердых частиц (кристаллов) ингибитора. Со временем (как правило, от нескольких часов до дня) растворенная фракция ингибитора образует комплексы или связывается с циклодекстрином. Этот процесс дает возможность раствориться большему количеству твердых частиц ингибитора и затем образовать комплексы. Со временем может произойти перенос массы от первоначального твердого ингибитора до ингибитора в растворенном состоянии и до растворенного комплекса циклодекстрина и ингибитора. Обычно образование комплексов с циклодекстринами достигается через образование гомогенного раствора соединения, которое необходимо ввести в комплекс. Для карфилзомиба образование гомогенного раствора требовало бы очень низкого pH, при котором возникали бы реакции деградации, например, с сильной соляной кислотой, образующие потенциально генотоксичные примеси. В этом случае удобнее и выгоднее проводить процесс комплексообразования в гетерогенном состоянии в более мягком диапазоне pH 2,5-3, используя лимонную кислоту (которая является слабой карбоновой кислотой). После достижения заданной концентрации ингибитора в составе комплексов процесс комплексообразования во взвеси прекращают, отфильтровывая нерастворенные твердые частицы ингибитора. pH полученного в результате гомогенного раствора затем можно подвести при необходимости до диапазона pH, подходящего для внутривенного введения (например, pH 3,5, используя водный раствор гидроксида натрия). Кроме того, гомогенный раствор комплексов с подведенным pH можно дополнительно развести водой до точной концентрации, желательной для следующей стадии изготовления продукта, и для гарантии точности заявленной в спецификации силы лекарственного препарата.

Объединенный эффект концентрации циклодекстрина и pH на комплексообразование имеет больший солюбилизирующий потенциал относительно индивидуального использования каждой методики. Степень солюбилизации относительно независима от температуры, что удобно для изготовления, когда поддержание низкой температуры более предпочтительно при изготовлении стерильного продукта и минимизации ускоряемых температурой реакций деградации.

Вторая комбинация включает комплексы пептидного протеасомного ингибитора и циклодекстрина(ы). Такие комплексы имеют улучшенную растворимость в воде относительно одного протеасомного ингибитора. Например, гомогенные растворы соединения формулы (5) (карфилзомиба) можно получить при фармацевтически пригодном pH (например, около 3,5) и при более высоких концентрациях (например, около 5 мг/мл), чем которые можно было бы получить без одного или нескольких циклодекстринов и способов комплексообразования между соединением и одним или несколькими циклодекстринами по настоящему изобретению.

В дополнение к увеличению растворимости пептидного протеасомного ингибитора в растворе составы, приготовленные способами по настоящему изобретению, в результате являются фармацевтическими растворами, имеющими удивительную стабильность. Хотя не ожидали, что высокие концентрации протеасомного ингибитора, получаемые с помощью способов по настоящему изобретению, будут термодинамически стабильными, было показано, что на растворы не оказывают влияния температура хранения (например, растворы могут быть стабильны при температуре от -20 до 25°C), циклы замораживания-размораживания, а также лиофилизация и восстановление лиофилизата. Стабильность находящихся в комплексе пептидного протеасомного ингибитора и циклодекстрина достаточна, чтобы перенести изменение pH после комплексообразования без выпадения в осадок. Эта стабильность раствора позволяет использовать находящееся в комплексе вещество в диапазоне pH, приемлемом для инъекций, стабильности продукта и других фармацевтических целей. Соответственно фармацевтические композиции, приготовленные способами по настоящему изобретению, можно рассматривать как перенасыщенные растворы, которые не выпадают в осадок, и концентрация которых значительно не меняется на протяжении их использования в любом медицинском применении (например, конечная фармацевтическая композиция может быть стабильна в течение по меньшей мере 1-5 дней и, возможно, в течение более длительного времени).

Первую комбинацию можно изготовить, добавляя твердую форму пептидного протеасомного ингибитора к водному раствору одного или нескольких циклодекстринов. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда пептидным протеасомным ингибитором является соединение формулы (5) или его фармацевтически приемлемая соль, концентрация одного или нескольких циклодекстринов в растворе составляет от менее чем примерно 1% и возможно до предела растворимости циклодекстрина(ов), например примерно 40%. В некоторых вариантах осуществления изобретения для целей изготовления концентрация одного или нескольких циклодекстринов в растворе составляет от примерно 15 до примерно 30%. В некоторых вариантах осуществления изобретения для целей восстановления конечного лекарственного продукта в виде раствора для терапевтического введения или готового для разведения перед введением концентрация одного или нескольких циклодекстринов в растворе составляет от примерно 5 до примерно 15%, например приблизительно 10%. При дальнейшем разведении эта концентрация может быть уменьшена дополнительно, если это необходимо для инъекций или для других путей доставки лекарственных средств. Молярное соотношение одного или нескольких циклодекстринов в рас-

творе и соединения формулы (5) составляет от примерно 0,5 до примерно 100. В некоторых вариантах осуществления изобретения это соотношение существует в виде молярного избытка циклодекстрина для сдвига равновесия устойчивости комплексообразования в сторону предпочтительности состояния в комплексе относительно состояния вне комплекса. Например, молярное соотношение (молярное количество циклодекстрина, разделенное на молярное количество протеасомного ингибитора) составляет от примерно 10 до примерно 20. В некоторых вариантах осуществления изобретения весовое соотношение циклодекстрина и протеасомного ингибитора составляет от примерно 30 до примерно 60. Избыточное пенообразование циклодекстриновых растворов может представлять собой проблему для устойчивых производственных процессов. Удивительно, но добавление пептидного протеасомного ингибитора к водному раствору циклодекстрина(ов) может контролировать пенообразование раствора в первой комбинации.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация состоит, по существу, из пептидного протеасомного ингибитора, циклодекстрина и воды.

Твердая форма пептидного протеасомного ингибитора, добавленная к раствору циклодекстрина и воды, может представлять собой кристаллическую форму соединения, описанного в настоящем документе (например, соединение может быть полиморфным или определенным полиморфом, описанным в настоящем документе). В некоторых вариантах осуществления изобретения твердая форма пептидного протеасомного ингибитора является аморфной.

Первая комбинация является гетерогенной (например, является суспензией или взвесью). Такой раствор можно охарактеризовать общим весовым процентным содержанием твердого вещества и распределением частиц по размерам в растворе. Например, когда пептидный протеасомный ингибитор является соединением формулы (5) или его фармацевтически приемлемой солью, первая комбинация может иметь общее весовое процентное содержание твердого вещества от примерно 1 до примерно 45% (например, от примерно 1 до примерно 40%; от примерно 1 до примерно 35%; от примерно 1 до примерно 30%; от примерно 1 до примерно 25%; от примерно 1 до примерно 20%; от примерно 1 до примерно 15%; от примерно 1 до примерно 10%; от примерно 5 до примерно 45%; от примерно 5 до примерно 45%; от примерно 10 до примерно 45%; от примерно 12 до примерно 45%; от примерно 15 до примерно 45%; от примерно 20 до примерно 45%; от примерно 25 до примерно 45%; от примерно 30 до примерно 45%; от примерно 35 до примерно 45%; от примерно 5 до примерно 35%; от примерно 10 до примерно 40%; от примерно 15 до примерно 37% и от примерно 18 до примерно 36%). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация может иметь весовое процентное содержание твердого вещества от примерно 20 до примерно 33%. В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация может иметь весовое процентное содержание твердого вещества от примерно 30 до примерно 33%. В течение процесса изготовления содержание растворенных твердых веществ относительно содержания нерастворенных твердых веществ может варьировать в зависимости от растворимости и степени комплексообразования. Первоначально один или несколько циклодекстринов хорошо растворимы в воде, а ингибиторы плохо растворимы, таким образом оставаясь в основном в виде гетерогенной смеси или взвеси.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация может иметь распределение частиц по размерам для исходных частиц с диаметром в диапазоне от менее чем примерно 1 до примерно 300 мкм или больше (например, от примерно 1 до примерно 200 мкм; от примерно 1 до примерно 150 мкм; от примерно 1 до примерно 125 мкм; от примерно 1 до примерно 100 мкм; от примерно 1 до примерно 50 мкм; от примерно 1 до примерно 10 мкм; от примерно 5 до примерно 300 мкм; от примерно 25 до примерно 300 мкм; от примерно 50 до примерно 300 мкм; от примерно 60 до примерно 300 мкм; от примерно 75 до примерно 300 мкм; от примерно 100 до примерно 300 мкм; от примерно 125 до примерно 300 мкм; от примерно 150 до примерно 300 мкм; от примерно 200 до примерно 300 мкм; от примерно 225 до примерно 300 мкм; от примерно 250 до примерно 300 мкм; от примерно 5 до примерно 150 мкм; от примерно 25 до примерно 200 мкм; от примерно 50 до примерно 125 мкм; от примерно 10 до примерно 100 мкм; от примерно 75 до примерно 225 мкм и от примерно 100 до примерно 200 мкм). Исходные частицы могут существовать в виде дискретных частиц или в виде агломератов, состоящих из одной или нескольких исходных частиц. Агломераты исходных частиц могут иметь значительно большие размеры, чем исходные частицы. Поэтому в дополнение к лопастной мешалке полезно включать высокомоментное перемешивающее устройство, такое как перемешивающее устройство с высоким усилием сдвига (часто выполненное в виде роторно-статорной мешалки). Мощная мешалка за период от примерно 5 до примерно 90 мин (например, от примерно 5 до примерно 80 мин; от примерно 5 до примерно 75 мин; от примерно 5 до примерно 60 мин; от примерно 5 до примерно 45 мин; от примерно 5 до примерно 30 мин; от примерно 10 до примерно 90 мин; от примерно 15 до примерно 90 мин; от примерно 30 до примерно 90 мин; от примерно 45 до примерно 90 мин; от примерно 50 до примерно 90 мин; от примерно 75 до примерно 90 мин; от примерно 15 до примерно 75 мин; от примерно 20 до примерно 70 мин; от примерно 30 до примерно 70 мин; от примерно 45 до примерно 75 мин и от примерно 10 до примерно 45 мин), например за период примерно 60 мин, будет разбивать крупные агломераты до диспергированных исходных частиц в растворе циклодекстрина. Дополнительное смешивание может помочь тем, что разби-

вает исходные частицы на меньшие фрагменты. Эта схема процесса обеспечивает надежный способ, в котором система(ы) смешивания обеспечивает(ют), по существу, диспергированные исходные частицы с распределением частиц по размерам в диапазоне от менее 1 до примерно 30 мкм, например до примерно 10 мкм, независимо от распределения частиц по размерам и степени агломерации твердого протеасомного ингибитора. Поэтому вариабельность распределения частиц по размерам для протеасомного ингибитора от партии к партии не существенна для проведения процесса, так как система(ы) смешивания уменьшает(ют) размер агломератов и исходных частиц, как правило, до предпочтительного диапазона распределения частиц по размерам. Например, первая комбинация может иметь распределение частиц по размерам первоначально от менее чем примерно 1 до примерно 10000 мкм до распределения частиц по размерам от менее чем примерно 1 до примерно 30 мкм после стадии смешивания с использованием высокомогущного устройства.

В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация, по существу, свободна от органического растворителя. Например, вода в первой комбинации может представлять собой воду для инъекций (WFI). В некоторых вариантах осуществления изобретения первая комбинация, по существу, свободна от буфера (например, в первой комбинации отсутствует буферная кислота или буферное основание).

Способ может дополнительно включать в себя смешивание первой комбинации перед изменением pH первой комбинации, например, с использованием мешалки с высоким усилием сдвига и обычной лопастной мешалки. Обычная мешалка может работать при любой скорости вращения, достаточной для предупреждения осаждения суспензии частиц на дно емкости для перемешивания. Время перемешивания помимо других факторов зависит от емкости и геометрии лопастей, и его, по существу, может определить опытный специалист в данной области по виду перемешиваемой взвеси или раствора. Аналогично, скорость мешалки с высоким усилием сдвига зависит, например, от диаметра перемешивающего элемента, геометрии статора, ширины зазора и других факторов. Усилие, прилагаемое к взвеси, можно определить посредством теоретических вычислений или эмпирических измерений. В альтернативном варианте опытные специалисты в данной области могут определить необходимую скорость смешивания с высоким усилием сдвига и длительность высокоскоростного перемешивания, наблюдая под микроскопом образцы взвеси после различных комбинаций скорости и времени перемешивания. После устранения агломератов и уменьшения размера исходных частиц можно применять избыточные скорость и время смешивания с высоким усилием сдвига без ущерба процессу. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения смешивание может включать в себя перемешивание первой комбинации при скорости от примерно 500 до примерно 10000 об/мин. Например смешивание с высоким усилием сдвига можно проводить при скорости от примерно 2000 до примерно 3500 об/мин. Для меньших и больших диаметров мешалок и емкостей относительная скорость может существенно меняться.

Смешивание первой комбинации можно проводить при температуре от примерно 0 до примерно 30°C (например, от примерно 5 до примерно 25°C; от примерно 10 до примерно 30°C; от примерно 15 до примерно 25°C; от примерно 5 до примерно 20°C; от примерно 2 до примерно 22°C и от примерно 20 до примерно 30°C). В некоторых вариантах осуществления изобретения смешивание первой комбинации можно проводить в течение времени, достаточного для достижения распределения частиц по размерам в диапазоне от примерно меньше чем 1 до примерно 30 мкм в первой комбинации. Смешивание первой комбинации проводят в течение интервала времени от примерно 30 до примерно 90 мин, например в течение 60 мин.

Изменение pH первого раствора может включать увеличение или снижение pH первого раствора путем добавления кислоты или основания. В некоторых вариантах осуществления изобретения, когда пептидным протеасомным ингибитором является соединение формулы (5) или его фармацевтически приемлемая соль, pH первой комбинации составляет от примерно 4 до примерно 7. В некоторых вариантах осуществления изобретения для изменения pH добавляют кислоту, такую как неорганическая или органическая кислота. Неограничивающие примеры кислот включают молочную кислоту, уксусную кислоту, муравьиную кислоту, лимонную кислоту, щавелевую кислоту, мочевую кислоту, янтарную кислоту, малеиновую кислоту, фумаровую кислоту, бензойную кислоту, винную кислоту, глицина гидрохлорид, бисульфат (существующие, например, в виде натриевой, калиевой или аммониевой соли), и фосфорную кислоту или фосфатные соли. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислотой является органическая кислота. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислотой является лимонная кислота. Подходящая кислота может иметь одно или несколько значений pKa, причем первый pKa находится в диапазоне от примерно -6 до примерно +5. Например, кислота имеет первый pKa в диапазоне от примерно +1 до примерно +4,5. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислота имеет первый pKa в диапазоне от примерно +1,5 до примерно +3,5 (см., например, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Eds. P. Heinrich Stahl and Camille G. Wermuth, Verlag Helvetica Chimica Acta (Switzerland) 2002, 336-341, полное содержание которого включено в настоящее описание путем ссылки).

В некоторых вариантах осуществления изобретения для соединений, растворимость и комплексообразование которых в действительности увеличиваются при повышении pH, pH изменяют добавлением

основания, например неорганического или органического основания. Неограничивающие примеры неорганических оснований включают гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид аммония, гидроксид кальция, гидроксид магния и карбонатные или бикарбонатные соли натрия, калия или аммония. Неограничивающие примеры органических оснований включают пиридиновое, метиламиновое, триэтиламино-вое, имидазольное, бинзимидазольное, гистидиновое и фосфазино-вые основания. Органическое основание может иметь pK_b или первый pK_b от примерно -6 до примерно +10. Подходящий pK_a или pK_b кислоты или основания соответственно должен находиться в диапазоне, достаточном для достижения некоторого увеличения растворимости ингибитора. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислоту или основание добавляют в форме водного раствора (например, водного раствора кислоты).

Изменение pH первого раствора приводит к образованию второй комбинации, в которой пептидный протеасомный ингибитор является более растворимым, чем в первой комбинации. Например, пептидный протеасомный ингибитор может быть по меньшей мере примерно на 10% более растворимым (например, по меньшей мере примерно на 100%, по меньшей мере примерно на 150%, по меньшей мере примерно на 200%, по меньшей мере примерно на 250%, по меньшей мере примерно на 400%, по меньшей мере примерно на 500%, по меньшей мере примерно на 1000%, по меньшей мере примерно на 1250%, по меньшей мере примерно на 1500%, по меньшей мере примерно на 2000%, по меньшей мере примерно на 2500%, по меньшей мере примерно на 3000%, по меньшей мере примерно на 4000%, по меньшей мере примерно на 5000%, по меньшей мере примерно на 5500%, по меньшей мере примерно на 6000%, по меньшей мере примерно на 7500%, по меньшей мере примерно на 8000%, по меньшей мере примерно на 9000% и по меньшей мере примерно на 10000% более растворимым) во второй комбинации по сравнению с растворимостью ингибитора в первой комбинации.

Не касаясь какой-либо конкретной гипотезы, изменение pH первой комбинации инициирует комплексообразование одного или нескольких циклодекстринов и пептидного протеасомного ингибитора. Увеличение комплексообразования сдвигает равновесие в растворе, инициируя дополнительное комплексообразование и в итоге приводит к солюбилизации пептидного протеасомного ингибитора. После добавления дополнительного вещества вторую комбинацию можно смешивать в течение времени, достаточного для достижения либо гетерогенной смеси с достаточно солюбилизированным и находящимся в комплексе ингибитором, либо гомогенной третьей комбинации, в которой весь ингибитор находится в комплексе, и ничего не остается в виде нерастворенного твердого вещества. Например, концентрация протеасомного ингибитора в третьей комбинации может составлять от примерно 1 до примерно 18 мг/мл, например от примерно 2 до примерно 8 мг/мл, от примерно 4 до примерно 6 мг/мл или от примерно 5 до примерно 6 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления изобретения pH третьей комбинации составляет от примерно 1,5 до примерно 4, например от примерно 2 до примерно 3,5 или от примерно 2,5 до примерно 3,5. В случае, когда достаточную степень комплексообразования можно достигнуть без обязательного растворения и комплексообразования всей массы ингибитора, присутствующей во взвеси, может быть полезно остановить процесс комплексообразования после достижения заданной концентрации. В этих случаях гомогенный раствор с желаемой концентрацией ингибитора можно получить посредством фильтрации избыточного содержания твердого ингибитора. В результате находящиеся в комплексе ингибитор и циклодекстрин(ы) остаются в функционально стабильном растворе, несмотря на то, что динамическое равновесие комплексообразования и солюбилизации может предполагать термодинамически нестабильное состояние.

Комплексообразование пептидного протеасомного ингибитора в третьей комбинации составляет по меньшей мере примерно 50% (например, по меньшей мере примерно 55%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%). В некоторых вариантах осуществления изобретения комплексообразование пептидного протеасомного ингибитора в третьей комбинации составляет по меньшей мере примерно 99%. Предположительно, для некоторых комбинаций концентрации циклодекстрина, концентрации ингибитора, pH и времени комплексообразования можно получить раствор со 100% ингибитора в комплексе, когда смесь становится гомогенной.

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанный выше способ проводят в одном сосуде. Например, смешивание взвеси, в которой происходит комплексообразование, в способе можно провести, используя зондовую мешалку с высоким усилием сдвига (например, гомогенизатор) внутри термостатируемой емкости для смешивания с рубашкой.

Настоящее изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции соединения формулы (5) или ее фармацевтически приемлемой солевой формы, причем способ включает в себя предоставление первой комбинации соединения формулы (5), одного или нескольких циклодекстринов и воды, причем первая комбинация является гетерогенной, а соединение или соль имеют низкую растворимость в первой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере одним из одного или нескольких циклодекстринов является SBECD, а водой является WFI. Способ до-

полнительно включает контактирование первой комбинации с кислотой для образования второй комбинации, причем соединение является более растворимым во второй комбинации, чем в первой комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислотой является лимонная кислота (например, водный раствор лимонной кислоты).

Неограничивающий объем изобретения пример способа включает в себя внесение первой комбинации, включающей воду (например, WFI), SBECD и соединения формулы (5) или его фармацевтически приемлемой соли, в сосуд. В некоторых вариантах осуществления изобретения воду и SBECD смешивают до добавления соединения. Первую комбинацию можно смешивать до получения гетерогенного раствора (например, от примерно 30 до примерно 90 мин, от примерно 40 до примерно 80 мин и от примерно 50 до примерно 70 мин). В некоторых вариантах осуществления изобретения первую комбинацию смешивают в течение примерно 60 мин. Если соединение образует агломераты в первой комбинации, размер частиц для любого агломерированного соединения можно уменьшить. После достижения гетерогенной смеси (например, взвеси) добавляют кислоту (например, органическую кислоту, такую как лимонная кислота) к первой комбинации для получения второй комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения кислоту добавляют в виде водного раствора. Смешивание затем можно продолжить до получения гомогенной третьей комбинации или в течение меньших интервалов времени, оставляя гетерогенную смесь с достигнутой желаемой степенью комплексообразования и солюбилизации. В некоторых вариантах осуществления изобретения смешивание второй комбинации проводят в течение интервала времени в диапазоне от примерно 1 до примерно 48 ч, например до 18 ч. В некоторых вариантах осуществления изобретения смешивание второй комбинации проводят в течение примерно 12 ч. Например, смешивание можно проводить в течение примерно шести часов. В некоторых вариантах осуществления изобретения концентрация соединения в третьей комбинации находится в диапазоне от примерно 1 до примерно 15 мг/мл (например, от примерно 3 до примерно 12 мг/мл, от примерно 4 до примерно 8 мг/мл, примерно 5 мг/мл). В некоторых вариантах осуществления изобретения способ используют для получения раствора соединения для инъекций. В других вариантах осуществления изобретения способ используют для получения раствора для лиофилизации в виде асептического конечного фармацевтического продукта, который можно хранить, транспортировать и восстанавливать водой или другим носителем при необходимости инъекции пациенту.

Фармацевтические композиции, полученные в виде стерильных продуктов с использованием методик, описанных в настоящем документе, обычно изготавливают с применением асептических методик и стерильной фильтрации до заполнения ими первичных упаковочных единиц (например, стеклянных флаконов), если получение включает в себя стадию стерилизации, и до использования не возникает загрязнения.

Композицию пептидного протеасомного ингибитора, растворенную в водном буфере или водном растворе, например, после стерильной фильтрации, можно необязательно лиофилизировать (в свободном и защищенном от загрязнений контейнере) и восстановить в соответствующем водном разбавителе непосредственно перед использованием. В некоторых вариантах осуществления изобретения лиофилизированный фармацевтический состав по настоящему изобретению включает, например, карфилзомиб, например KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для подведения pH (до целевого pH 3,5)).

В некоторых вариантах осуществления изобретения разбавителем является стерильная вода для инъекций (WFI). В некоторых вариантах осуществления изобретения разбавителем является стерильный буфер (например, цитратный буфер). В некоторых вариантах осуществления изобретения разбавитель содержит лимонную кислоту. В некоторых вариантах осуществления изобретения восстановление можно проводить согласно следующему протоколу (например, для достижения концентрации карфилзомиба 2 мг/мл):

1. Вынуть флакон из холодильника непосредственно перед использованием.
2. Соблюдая правила асептики, восстановить каждый флакон, медленно вводя шприцом 29 мл стерильной воды для инъекций, USP, направляя раствор на внутреннюю стенку флакона, чтобы минимизировать образование пены.
3. Аккуратно и медленно вращать и/или переворачивать флакон в течение 1 мин пока не произойдет полное растворение любого осадка или порошка. Не встряхивать, для того чтобы избежать вспенивания. Если происходит вспенивание, то раствор оставляют во флаконе примерно на 2-5 мин до уменьшения пены.
4. После восстановления KYPROLIS готов для внутривенного введения. Восстановленный продукт должен представлять собой прозрачный бесцветный раствор. Если наблюдается любое изменение цвета или твердые частицы, восстановленный продукт нельзя использовать.
5. При добавлении в мешок для внутривенного введения рассчитанную дозу отбирают из флакона и разбавляют в 50 мл 5% декстрозы для инъекций в мешке для внутривенных инъекций, USP.
6. Следует сразу же выбросить неиспользованную часть флакона.

В композициях по настоящему изобретению одним источником регуляции pH является буфер. Как правило, буфер присутствует в виде кислоты или основания и их сопряженных оснований или кислоты

соответственно. В одном варианте осуществления изобретения диапазон концентраций буферной соли составляет 1-100 мМ. Например, диапазон концентраций буферной соли может составлять 5-50 мМ (например, примерно 10 мМ (в твердых составах, количество буфера выбирают, чтобы получить эту концентрацию после восстановления/разбавления)). Концентрацию буфера и pH раствора можно подобрать, чтобы обеспечить оптимальный баланс растворимости и стабильности.

Примеры подходящих буферов включают смеси слабых кислот и солей щелочных металлов (например, натрия, калия) сопряженного основания слабых кислот, таких как тартрат натрия и цитрат натрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения буфером является цитрат натрия/лимонная кислота.

Солюбилизация плохо растворимых в воде лекарственных соединений комплексообразованием с циклодекстринами интенсивно исследуется. Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из 6, 7 или 8 глюкозных звеньев (α -CD, β -CD и γ -CD), соединенных α -1,4-связями. Внутренние диаметры α -CD, β -CD и γ -CD составляют приблизительно 5 Å, 6 Å и 8 Å соответственно. Внутренняя полость является относительно гидрофобной вследствие присутствия CH_2 -групп и простых эфиров, в то время как внешняя поверхность, состоящая преимущественно из первичных и вторичных гидроксильных групп, является более полярной. Вода внутри полости имеет тенденцию к замещению менее полярными молекулами. Способность циклодекстринов формировать нековалентные комплексы включения с молекулами, которые частично заходят внутрь неполярной полости, приводит к солюбилизации лекарственных соединений.

Двумя водорастворимыми производными β -CD, представляющими фармацевтический интерес, являются сульфобутиловый простой эфир бета-циклодекстрина (SBECD) и гидроксипропил-бета-циклодекстрин (HPCD), которые оба, как было показано, являются безопасными и хорошо переносятся. Оба вещества, SBECD (фирменное название - Captisol®) и HPCD (фирменное название - Kleptose®), используются в доступных в продаже продуктах для внутривенного введения.

Циклодекстрины по настоящему изобретению включают альфа-, бета- и гамма-циклодекстрин. В одном варианте осуществления изобретения одним или несколькими циклодекстринами является либо замещенный, либо незамещенный β -циклодекстрин, присутствующий, например, в количестве 5-35% (мас./об.). В некоторых вариантах осуществления изобретения количество циклодекстрина составляет примерно 25% (мас./об.). В определенном варианте осуществления изобретения количество циклодекстрина в составе, подходящим для инъекции, составляет примерно 10% (мас./об.). В другом варианте осуществления изобретения одним или несколькими циклодекстринами является замещенный β -циклодекстрин. Замещенные циклодекстрины увеличивают растворимость циклодекстрина и смягчают токсические эффекты, ассоциированные с незамещенными циклодекстринами. Примеры замещенных β -циклодекстринов включают замещенный одной или несколькими гидрофильными группами, такими как моносахарид (например, глюкозил, мальтозил), карбоксиалкилзамещенный (например, карбоксиметил, карбоксиэтил), гидроксильный (например, гидроксипропил) и замещенный сульфоалкильными простыми эфирами β -циклодекстринов. Особенно подходящие бета-циклодекстрины включают гидроксипропил- β -циклодекстрин (HPCD) и сульфобутиловый простой эфир β -циклодекстрина (SBECD). В некоторых вариантах осуществления изобретения циклодекстрином является SBECD. Однако следует понимать, что, как правило, любое замещение циклодекстрина, включая замещение гидрофобными группами, такими как алкилы, будет улучшать его растворимость в воде, разрушая систему водородных связей в кристаллической решетке твердого циклодекстрина, таким образом, снижая энергию кристаллической решетки твердого вещества. Полагают, что степень замещения не критична, однако в некоторых вариантах осуществления изобретения степень замещения составляет по меньшей мере 1% и, как правило, составляет от 2 до 10%, например от 3 до 6%.

В некоторых вариантах осуществления изобретения могут использоваться один или несколько циклодекстринов. Например, можно использовать смесь двух или нескольких циклодекстринов для образования комплекса с пептидным протеасомным ингибитором по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения можно использовать Captisol и Kleptose для образования комплексов с пептидным протеасомным ингибитором, таким как карфилзомиб.

Авторы изобретения обнаружили, что может быть предпочтительным минимизировать количество хлорид-иона (или других нуклеофильных анионов) в способах и фармацевтических композициях, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления изобретения по меньшей мере один из одного или нескольких циклодекстринов (добавленных в первую композицию) является циклодекстрином с низким содержанием хлорид-иона. В контексте настоящего изобретения "циклодекстрин с низким содержанием хлорида" относится к хлоридсодержащему циклодекстрину, содержащему 0,05 % мас./мас. или меньше хлорида натрия, или при наличии других (или дополнительных) источников хлорида натрия "циклодекстрин с низким содержанием хлорида" относится к хлоридсодержащему циклодекстрину, имеющему содержание хлорид-иона меньше или равное количеству хлорида, которое присутствовало бы в циклодекстрине, имеющем 0,05 % мас./мас. хлорида натрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения цикло-

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,2. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,2).

В некоторых вариантах осуществления изобретения молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях не превышает 0,1. В определенных вариантах осуществления изобретения, по меньшей мере, присутствует некоторое количество хлорид-иона (а именно молярное соотношение хлорид-иона и соединения в фармацевтических композициях отличается от нуля, но меньше 0,1).

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции не включают детектируемого количества хлорид-иона.

В способах, описанных в настоящем документе, композиции по настоящему изобретению (например, растворы циклодекстрина, первые комбинации, вторые комбинации) имеют низкие концентрации любого сильного нуклеофильного иона (например, хлорид-иона, бромид-иона, фторид-иона и йодид-иона). Например, раствор может иметь концентрацию нуклеофильного иона включительно до $8,5 \times 10^{-3}$ М. В некоторых вариантах осуществления изобретения растворы, имеющие низкое содержание нуклеофильного иона, можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя методику, известную в данной области, включая, например, нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диалфильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему документу содержит включительно до $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона. В некоторых вариантах осуществления изобретения нуклеофильный ион присутствует в виде соли, например натриевой соли, но нуклеофильная соль может существовать в растворе с другими катионами помимо натрия (например, катионами водорода, калия, магния и кальция). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона.

В способах, описанных в настоящем документе, композиции по настоящему изобретению (например, растворы циклодекстрина, первые комбинации, вторые комбинации, третьи комбинации и фармацевтические композиции) имеют низкие концентрации хлорид-иона. Например, раствор может иметь концентрацию хлорид-иона включительно до 0,03% (мас./об.) (например, от 0 до 0,03%; от 0,01 до 0,03%; от 0,015 до 0,03%; от 0,02 до 0,03%; от 0,025 до 0,03%; от 0 до 0,025%; от 0 до 0,2%; от 0 до 0,01%; от 0,005 до 0,025% и от 0,015 до 0,025% (мас./об.)). В некоторых вариантах осуществления изобретения растворы, имеющие низкое содержание хлорид-иона, можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя технологию, известную в данной области, включая, например, нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диалфильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит включительно до 0,03% (мас./об.) хлорид-иона. В некоторых вариантах осуществления изобретения хлорид-ион присутствует в виде соли, например хлорида натрия, но соль хлорида может существовать в растворе с другими катионами помимо натрия (например, катионами водорода, калия, магния и кальция). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до 0,03% (мас./об.) хлорид-иона. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше 0,03% (мас./об.) хлорид-иона.

В способах, описанных в настоящем документе, композиции по настоящему изобретению (например, растворы циклодекстрина, первые комбинации, вторые комбинации, третьи комбинации и фармацевтические композиции) имеют низкие концентрации хлорида натрия. Например, раствор может иметь концентрацию хлорида натрия включительно до 0,05% (мас./об.) (например, от 0 до 0,05%; от 0,01 до 0,05%; от 0,015 до 0,05%; от 0,02 до 0,05%; от 0,025 до 0,05%; от 0,03 до 0,05%; от 0,04 до 0,05%; от 0 до 0,045%; от 0 до 0,04%; от 0 до 0,035%; от 0 до 0,03%; от 0 до 0,025%; от 0 до 0,2%; от 0 до 0,01%; от 0,01 до 0,04%; от 0,025 до 0,045% и от 0,02 до 0,03% (мас./об.)). В некоторых вариантах осуществления изобретения растворы, имеющие низкое содержание хлорид-иона, можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя технологию, известную в данной области, включая, например, нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диалфильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит включительно до 0,05% (мас./об.) хлорида натрия. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до 0,05% (мас./об.) хлорида натрия. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше 0,05% (мас./об.) хлорида натрия.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор циклодекстрина, имеющий низкое со-

держание любого сильного нуклеофильного иона (например, хлорид-иона, бромид-иона, фторид-иона и йодид-иона), используют для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора (например, соединения формулы (1)-(5) или его фармацевтически приемлемой соли) по настоящему изобретению. Например, растворы циклодекстринов, используемых для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, могут иметь концентрацию нуклеофильного иона включительно до $8,5 \times 10^{-3}$ М. Такие растворы можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя технологию, известную в данной области, например нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диафильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор одного или нескольких циклодекстринов, используемых для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, содержит включительно до $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона. В некоторых вариантах осуществления изобретения нуклеофильный ион присутствует в виде соли, например соли натрия, но нуклеофильная соль может существовать в растворе с другими катионами помимо натрия (например, катионами водорода, калия, магния и кальция). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше $8,5 \times 10^{-3}$ М нуклеофильного иона.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор циклодекстрина, имеющий низкое содержание хлорид-иона, используют для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора (например, соединения формулы (1)-(5) или его фармацевтически приемлемой соли) по настоящему изобретению. Например, растворы циклодекстринов, используемые для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, могут иметь концентрацию хлорид-иона включительно до 0,03% (мас./об.) (например, от 0 до 0,03%; от 0,01 до 0,03%; от 0,015 до 0,03%; от 0,02 до 0,03%; от 0,025 до 0,03%; от 0 до 0,025%; от 0 до 0,2%; от 0 до 0,01%; от 0,005 до 0,025% и от 0,015 до 0,025% (мас./об.)). Такие растворы можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя технологию, известную в данной области, например нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диафильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор циклодекстринов, используемый для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, содержит включительно до 0,03% (мас./об.) хлорид-иона. В некоторых вариантах осуществления изобретения хлорид-ион присутствует в виде соли, например хлорида натрия, но соль хлорида может существовать в растворе с другими катионами помимо натрия (например, катионами водорода, калия, магния и кальция). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до 0,03% (мас./об.) хлорид-иона. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше 0,03% (мас./об.) хлорид-иона.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор циклодекстрина, имеющий низкую концентрацию хлорида натрия, используют для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора (например, соединения формулы (1)-(5) или его фармацевтической соли) по настоящему изобретению. Например, растворы циклодекстринов, используемые для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, может иметь концентрацию хлорида натрия включительно до 0,05% (мас./об.) (например, от 0 до 0,05%; от 0,01 до 0,05%; от 0,015 до 0,05%; от 0,02 до 0,05%; от 0,025 до 0,05%; от 0,03 до 0,05%; от 0,04 до 0,05%; от 0 до 0,045%; от 0 до 0,04%; от 0 до 0,035%; от 0 до 0,03%; от 0 до 0,025%; от 0 до 0,2%; от 0 до 0,01%; от 0,01 до 0,04%; от 0,025 до 0,045% и от 0,02 до 0,03% (мас./об.)). Такие растворы можно приобрести из коммерческих источников, или их можно приготовить, используя технологию обессоливания, известную в данной области, например нанофильтрацию, ультрафильтрацию, диафильтрацию, ионообменную хроматографию, обратный осмос и электролиз.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раствор одного или нескольких циклодекстринов, используемых для введения в фармацевтический состав пептидного протеасомного ингибитора, содержит включительно до 0,05% (мас./об.) хлорид-иона. В некоторых вариантах осуществления изобретения хлорид-ион присутствует в виде соли, например хлорида натрия, но соль хлорида может существовать в растворе с другими катионами помимо натрия (например, катионами водорода, калия, магния и кальция). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит до 0,03% (мас./об.) хлорид-иона. Например, фармацевтическая композиция содержит меньше 0,03% (мас./об.) хлорид-иона.

В дополнение к получению стабильных высококонцентрированных растворов пептидного протеасомного ингибитора составы, получаемые способами по настоящему изобретению, можно получить без химической дегградации и ограничений по стабильности, присущих другим способам приготовления фармацевтических составов. Например, в способах по настоящему изобретению отсутствует применение сильных кислот (например, HCl) для снижения pH в ходе комплексообразования. Хотя снижение pH состава до показателя меньше 2 может способствовать растворению пептидного протеасомного ингибитора и давать гомогенный раствор до образования комплексов, кислотность раствора может привести к дегра-

дации пептидного протеасомного ингибитора. Более того, пептидный протеасомный ингибитор содержит кетозпоксидную функциональную группу, и ингибитор восприимчив к гидролизу сильными нуклеофильными ионами, таким как хлорид-ион. Гидролиз эпоксидного кольца и катализируемое кислотой раскрытие эпоксидной группы являются путем деградации соединения. Например, деградация соединения формулы (5) приводит к образованию примеси хлоргидринового продукта деградации (CDP). Исходя из его структуры этот деградирующий агент можно отнести к алкилирующему агенту, поэтому мировые контрольно-надзорные органы рассматривают его как потенциальную генотоксичную примесь. Дополнительно в некоторых вариантах осуществления изобретения хлорид-ион также может разрушать эпоксид, приводя к образованию хлоргидринового аддукта. Как показано в примере 2, снижение уровня хлорид-иона в составе соединения формулы (5) может минимизировать или устранить варианты гидролиза, увеличивая стабильность и качество продукта. Однако использование способов по настоящему изобретению позволяет избежать применения сильных кислот и нуклеофильных ионов, и поэтому деградацию пептидного протеасомного ингибитора до таких продуктов деградации можно значительно снизить и в некоторых случаях даже исключить.

Фармацевтические композиции, пригодные для инъекций, могут включать стерильные водные растворы (для водорастворимых соединений) или дисперсии и стерильные порошки для превращения в стерильные растворы или дисперсии для инъекций непосредственно перед использованием. Для внутривенного введения подходящие носители включают стерильную воду для инъекций, стерильные буферы, такие как цитратный буфер, бактериостатическую воду и Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть достаточно текучей, чтобы проходить через иглу шприца. Композиция должна быть стабильной при условиях изготовления и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, используя покрытие, такое как лецитиновое, поддерживая требуемый размер частиц в случае дисперсии и используя поверхностно-активные вещества. Предупреждение действия микроорганизмов можно обеспечить с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. Во многих случаях предпочтительно включать в композицию изотоничные агенты, например сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит и хлорид натрия. Пролонгированную абсорбцию композиций для инъекций можно осуществить, включая в композицию агент, который задерживает абсорбцию, например моностеарат алюминия и желатин.

Стерильные растворы для инъекций можно изготовить, включая действующее соединение в требуемом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости с последующей стерилизацией через фильтр. В общем, дисперсии получают, включая действующее соединение в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из тех, что перечислены выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами получения является сушка в замороженном состоянии (лиофилизация), которая дает порошок действующего ингредиента плюс любой дополнительный желательный ингредиент из его раствора, заранее стерилизованного через фильтр.

Пероральные композиции обычно включают инертный разбавитель или съедобный носитель. Для целенаправленного перорального терапевтического введения соединение может быть включено с вспомогательными веществами и использовано в форме таблеток, лекарственных пастилок или капсул, например желатиновых капсул. Пероральные композиции также можно приготовить с использованием жидкого носителя для применения в качестве ополаскивателя для рта. В качестве части композиции также можно включить фармацевтически совместимые связующие агенты и/или адъювантные вещества. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; эксципиент, такой как крахмал или лактоза, вещество, улучшающее распадаемость таблеток, такое как альгиновая кислота, Primogel или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или Sterotes; вещество, способствующее скольжению, такое как коллоидная двуокись кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или вкусоароматический агент, такой как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

Для введения с помощью ингаляции соединения можно доставить в форме аэрозольного спрея из контейнера под давлением или диспенсера, который содержит подходящий пропеллент, например газ, такой как двуокись углерода, или с помощью небулайзера. Такие способы включают в себя описанные в патенте США № 6468798.

Системное введение терапевтического соединения, описанного в настоящем документе, также можно осуществить через слизистые или через кожу (трансдермально). Для введения через слизистые или трансдермального введения в составе используют усилители проницаемости, соответствующие ба-

рьеру, который необходимо преодолеть. Такие усилители проницаемости обычно известны в данной области и включают, например, для введения через слизистые детергенты, желчные кислоты и производные фузидовой кислоты. Введение через слизистые можно выполнить, используя назальные спреи или суппозитории. Для трансдермального введения действующие соединения вводят в состав мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в общем известно в данной области.

Фармацевтические композиции также можно приготовить в форме суппозиториев (например, с обычными основами для суппозиториев, такими как масло какао и другие глицериды) или удерживающей микроклизмы для ректальной доставки.

Дополнительно возможна интраназальная доставка, описанная в, *inter alia*, Namajima et al., Clin. Immunol. Immunopathol., 88(2), 205-10 (1998). Также можно использовать липосомы (например, описанные в патенте США № 6472375) и заключение в микрокапсулы. Также можно использовать биodeградируемые направленные системы доставки с помощью микрочастиц (например, описанные в патенте США № 6471996).

В одном варианте осуществления изобретения терапевтические соединения получают с носителями, которые будут защищать терапевтические соединения от быстрого выведения из организма, такие как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и системы доставки в микрокапсулах. Можно использовать биodeградируемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфир и полимолочная кислота. Такие составы можно приготовить, используя стандартные методики, или купить, например, в Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. В качестве фармацевтически приемлемых носителей также можно использовать суспензии липосом (включая липосомы, направленные на избранные клетки с помощью моноклональных антител к клеточным антигенам). Их можно приготовить по способам, известным опытным специалистам в данной области, например, описанным в патенте США № 4522811.

Фармацевтическую композицию можно вводить за один раз, или ее можно разделить на ряд меньших доз для введения через интервалы времени. Понятно, что точная дозировка и длительность лечения зависят от заболевания, против которого проводится лечение, и могут быть определены эмпирически с использованием известных протоколов испытаний или путем экстраполяции данных испытаний *in vivo* или *in vitro*. Следует отметить, что концентрация и величина дозы также могут варьировать в зависимости от тяжести состояния, которое необходимо улучшить. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного пациента со временем следует подбирать определенные схемы лечения в соответствии с индивидуальной необходимостью и профессиональным суждением человека, осуществляющего или контролирующего введение композиций, а также следует понимать, что диапазоны концентраций, указанные в настоящем документе, являются только иллюстративными и не предполагают ограничения объема и практического применения заявленных композиций.

Можно приготовить дозированные формы или композиции, содержащие соединение, описанное в настоящем документе, в диапазоне от 0,005 до 100%, при этом вес довести нетоксичным носителем. Способы приготовления этих композиций известны опытным специалистам в данной области. Предусмотренные композиции могут содержать 0,001-100% действующего ингредиента, в одном варианте осуществления - 0,1-95%, в другом варианте осуществления - 75-85%.

Фармацевтические композиции можно включать в контейнер, упаковку или диспенсер вместе с инструкцией по введению.

Способы применения.

Биологические последствия ингибирования протеасомы являются разнообразными. Ингибирование протеасомы было предложено в качестве предупреждения и/или лечения множества заболеваний, включая без ограничений пролиферативные заболевания, нейротоксичные/дегенеративные заболевания, болезнь Альцгеймера, ишемические состояния, воспаление, аутоиммунные заболевания, ВИЧ, рак, отторжение трансплантируемых органов, септический шок, ингибирование презентации антигена, снижение экспрессии вирусных генов, паразитарные инфекции, состояния, связанные с ацидозом, дегенерацию желтого пятна, легочные заболевания, мышечную дистрофию, фиброзные заболевания, нарушения роста костной ткани и волос. Поэтому фармацевтические составы для сильнодействующих протеасом-специфичных соединений, таких как эпоксикетоновый класс молекул, обеспечивают средства для введения лекарственного соединения пациенту и лечения этих состояний.

На клеточном уровне после обработки клеток различными ингибиторами протеасомы были описаны накопление полиубиквитинилированных белков, морфологические изменения клеток и апоптоз. Ингибирование протеасомы также было предложено в качестве потенциальной противоопухолевой терапевтической стратегии. Тот факт, что эпоксимицин исходно был идентифицирован в скрининге на противоопухолевые соединения, валидирует протеасому в качестве мишени противоопухолевой химиотерапии. Соответственно эти композиции пригодны для лечения рака.

На обеих моделях, *in vitro* и *in vivo*, было показано, что злокачественные клетки, как правило, чувствительны к ингибированию протеасомы. В действительности, ингибирование протеасомы уже было валидировано в качестве терапевтической стратегии для лечения множественной миеломы. Это частично может быть следствием зависимости быстро пролиферирующих злокачественных клеток от протеасом-

ной системы для быстрого удаления белков (Rolfe et al., J. Mol. Med. (1997) 75:5-17; Adams, Nature (2004) 4: 349-360). Поэтому настоящее изобретение относится к способу лечения раковых заболеваний, включающему в себя введение пациенту, которому необходимо такое лечение, эффективного количества пептидного протеасомного ингибитора по настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения термин "рак" включает, но не ограничен этим, гематологические и солидные опухоли. Рак относится к заболеванию крови, костной ткани, органов, кожи и сосудистой системы, включая без ограничения раковые заболевания мочевого пузыря, крови, костной ткани, мозга, молочных желез, шейки матки, грудной клетки, толстой кишки, эндометрия, пищевода, глаз, головы, почек, печени, легких, лимфатических узлов, ротовой полости, шеи, яичников, поджелудочной железы, простаты, прямой кишки, почек, желудка, яичек, гортани и матки. Конкретные примеры раковых заболеваний включают без ограничения лейкомию (острую лимфоцитарную лейкомию (ALL), острую миелогенную лейкомию (AML), хроническую лимфоцитарную лейкомию (CLL), волосатоклеточную лейкомию), неоплазии зрелых В-клеток (малую лимфоцитарную лимфому, В-клеточную пролимфоцитарную лейкомию, лимфоплазматическую лимфому (такую как макроглобулинемия Вальденстрема), лимфому маргинальной зоны селезенки, плазмноклеточную миелому, плазмоцитому, болезнь депозитов моноклональных иммуноглобулинов, болезни "тяжелых цепей", В-клеточную лимфому экстранодальной маргинальной зоны (MALT-лимфому), В-клеточную лимфому нодальной маргинальной зоны (NMZL), фолликулярную лимфому, лимфому клеток мантийной зоны, диффузную В-клеточную лимфому, медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому, интраваскулярную В-крупноклеточную лимфому, первичную экссудативную лимфому и лимфому/лейкемию Беркитта), неопластические перерождения зрелых Т-клеток и НК-клеток (натуральных киллеров) (Т-клеточную пролимфоцитарную лейкомию, Т-крупноклеточную гранулярную лимфоцитарную лейкомию, агрессивную НК-клеточную лейкомию, острую Т-клеточную лейкомию/лимфому, экстранодальную НК/Т-клеточную лимфому, энтеропатийную Т-клеточную лимфому, гепатоспленарную Т-клеточную лимфому, бластоидную НК-клеточную лимфому, грибовидный микоз (синдром Сезари), первичную анапластическую крупноклеточную лимфому кожи, лимфоматозный папулез, ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому, неспецифическую периферическую Т-клеточную лимфому и анапластическую крупноклеточную лимфому), лимфому Ходжкина (нодулярный склероз, смешанноклеточную, обогащенную лимфоцитами, обедненную или необедненную лимфоцитами, с преобладанием нодулярных лимфоцитов), миелому (множественную миелому, медленно растущую миелому, вялотекущую миелому), хроническое миелопролиферативное заболевание, миелодиспластическое/миелопролиферативное заболевание, миелодиспластические синдромы, ассоциированные с иммунодефицитом лимфопролиферативные нарушения, гистиоцитарные и дендритноклеточные неоплазии, мастоцитоз, хондросаркому, саркому Эвинга, фибросаркому, злокачественную гигантоклеточную опухоль, миеломную болезнь кости, остеосаркому, рак молочных желез (гормон-зависимый, гормон-независимый), гинекологические раковые заболевания (шейки матки, эндометрия, фаллопиевых труб, гестационную трофобластную болезнь, яичников, брюшины, матки, влагалища и вульвы), базально-клеточную карциному (BCC), сквамозно-клеточную карциному (SCC), злокачественную меланому, дерматофибросаркому выбухающую, карциному клеток Меркеля, саркому Капоши, астроцитому, пилоцитарную астроцитому, дизэмбриопластическую нейроэпиталиальную опухоль, олигодендроглиомы, эпендимому, мультиформную глиобластому, смешанные глиомы, олигоастроцитомы, медуллобластому, ретинобластому, нейробластому, герминому, тератому, злокачественную мезотелиому (перитонеальную мезотелиому, перикардальную мезотелиому, плевральную мезотелиому), нейроэндокринную гастроэнтеропанкреатическую опухоль (GEP-NET), карциноид, панкреатическую эндокринную опухоль (PET), колоректальную аденокарциному, колоректальную карциному, агрессивную нейроэндокринную опухоль, лейомиосаркому, муцинозную аденокарциному, перстневидноклеточную аденокарциному, гепатоцеллюлярную карциному, холангиокарциному, гепатобластому, гемангиому, печеночную аденому, фокальную нодулярную гиперплазию (нодулярную регенеративную гиперплазию, гамартому), немелкоклеточную легочную карциному (NSCLC) (сквамозно-клеточную легочную карциному, аденокарциному, крупноклеточную легочную карциному), мелкоклеточную легочную карциному, тиреоидную карциному, рак простаты (гормонрефрактерный, андрогеннезависимый, андрогензависимый, гормон-нечувствительный) и саркомы мягких тканей (фибросаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, дерматофибросаркому, липосаркому, рабдомиосаркому, лейомиосаркому, гемангиосаркому, синовиальную саркому, злокачественную опухоль оболочек периферических нервов/нейрофибросаркому, экстраклеточную остеосаркому).

В некоторых вариантах осуществления изобретения пептидный протеасомный ингибитор по настоящему изобретению или содержащую его фармацевтическую композицию можно вводить пациенту для лечения миеломы. Например, множественная миелома может включать рефрактерную и/или рефрактерную множественную миелому.

Многие опухоли гемопоэтических и лимфоидных тканей отличаются усилением пролиферации клеток или конкретного типа клеток. Хронические миелопролиферативные заболевания (CMPD) представляют собой расстройства клональных гемопоэтических стволовых клеток, отличающиеся пролиферацией в костном мозге одной или нескольких линий миелоидных клеток, приводящей к увеличению

числа гранулоцитов, красных кровяных клеток и/или тромбоцитов в периферической крови. Как таковое, применение протеасомного ингибитора для лечения таких болезней является привлекательным и исследуется (Cilloni et al., *Haematologica* (2007) 92: 1124-1229). CMPD может включать хроническую миелогенную лейкемию, хроническую нейтрофильную лейкемию, хроническую эозинофильную лейкемию, истинную полицитемию, хронический идиопатический миелофиброз, эссенциальную тромбоцитемию и неклассифицированное хроническое миелопролиферативное заболевание. Настоящее изобретение относится к способу лечения CMPD, включающему в себя введение пациенту, которому необходимо такое лечение, эффективного количества соединения протеасомного ингибитора, раскрытого в настоящем документе.

Миелодиспластические/миелопролиферативные заболевания, такие как хроническая миеломоноцитарная лейкемия, атипичная хроническая миелоидная лейкемия, юношеская миеломоноцитарная лейкемия и неклассифицированные миелодиспластические/миелопролиферативные заболевания, отличаются повышенным содержанием клеток костного мозга вследствие пролиферации одной или нескольких миелоидных линий. Ингибирование протеасомы описанной в настоящем документе композицией может служить для лечения этих миелодиспластических/миелопролиферативных заболеваний путем предоставления пациенту, которому необходимо такое лечение, эффективного количества композиции.

Миелодиспластические синдромы (MDS) относятся к группе расстройств гемопоэтических стволовых клеток, отличающихся дисплазией и непродуктивным гематопозом в одной или нескольких основных миелоидных клеточных линиях. Направленное воздействие на NF-κB с помощью протеасомного ингибитора в этих гематологических злокачественных образованиях вызывает апоптоз, таким образом, убивая злокачественную клетку (Braun et al. *Cell Death and Differentiation* (2006) 13:748-758). Дополнительно настоящее изобретение относится к способу лечения MDS, включающему в себя введение пациенту, которому необходимо такое лечение, эффективного количества соединения по настоящему изобретению. MDS включает рефрактерную анемию, рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами, рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией, рефрактерную анемию с избытком бластов, неклассифицируемый миелодиспластический синдром и миелодиспластический синдром, ассоциированный с изолированной аномалией del (5q) хромосомы.

Мастоцитоз представляет собой пролиферацию тучных клеток и их последующее накопление в одной или нескольких системах органов. Мастоцитоз включает, но не ограничен этим, мастоцитоз кожи, вялотекущий системный мастоцитоз (ISM), системный мастоцитоз с ассоциированными гематологическими заболеваниями, не относящимися к линии тучных клеток (SM-AFINMD), агрессивный системный мастоцитоз (ASM), тучноклеточную лейкемию (MCL), тучноклеточную саркому (MCS) и внекожную мастоцитому. Дополнительно настоящее изобретение относится к способу лечения мастоцитоза, включающему в себя введение эффективного количества соединения, раскрытого в настоящем документе, пациенту, которому поставлен диагноз мастоцитоз.

Протеасома регулирует NF-κB, который, в свою очередь, регулирует гены, вовлеченные в иммунный и воспалительный ответ. Например, NF-κB необходим для экспрессии гена легкой цепи иммуноглобулина, гена α-цепи рецептора IL-2, гена главного комплекса гистосовместимости класса I и ряда генов цитокинов, кодирующих, например, IL-2, IL-6, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и IFN-β (Palombella et al., *Cell* (1994) 78: 773-785). Таким образом, настоящее изобретение относится к способам влияния на уровень экспрессии IL-2, MHC-I, IL-6, TNFα, IFN-β или любых других ранее упоминавшихся белков, причем каждый способ включает введение пациенту эффективного количества композиции протеасомного ингибитора, раскрытой в настоящем документе.

Также изобретение относится к способу лечения аутоиммунного заболевания у пациента, включающему в себя введение терапевтически эффективного количества соединения, описанного в настоящем документе. "Аутоиммунным заболеванием" в контексте настоящего документа является заболевание или расстройство, возникающее вследствие или направленное против собственных тканей индивидуума. Примеры аутоиммунных заболеваний или расстройств включают, но не ограничены этим, воспалительные ответы, такие как воспалительные заболевания кожи, включая псориаз и дерматит (например, атопический дерматит); системную склеродерму и склероз; реакции, связанные с воспалительным заболеванием кишечника (такие, как болезнь Крона и язвенный колит); респираторный дистресс-синдром (включая респираторный дистресс-синдром у взрослых; ARDS); дерматит; менингит; энцефалит; увеит; колит; гломерулонефрит; аллергические состояния, такие как экзема и астма, и другие состояния, включающие инфильтрацию Т-клеток, и хронические воспалительные реакции; атеросклероз; недостаточность адгезии лейкоцитов; ревматоидный артрит; системную красную волчанку (SLE); сахарный диабет (например, сахарный диабет типа I или инсулинозависимый сахарный диабет); рассеянный склероз; синдром Рейно; аутоиммунный тиреоидит; аллергический энцефаломиелит; синдром Шегрена; ювенильный диабет; и иммунные реакции, ассоциированные с гиперчувствительностью немедленного и замедленного типа, опосредованной цитокинами и Т-лимфоцитами, обычно обнаруживаемой при туберкулезе, саркоидозе, полимиозите, гранулематозе и васкулите; пернициозную анемию (болезнь Аддисона); заболевания, включающие лейкоцитарный диapedез; воспалительное заболевание центральной нервной системы

(ЦНС); синдром множественного повреждения органов; гемолитическую анемию (включая без ограничения криоглобулинемию или анемию с положительной пробой Кумбса); тяжелую псевдопаралитическую миастению; заболевания, опосредованные комплексом антиген-антитело; антигломерулярное мембранное заболевание; антифосфолипидный синдром; аллергический неврит; болезнь Грейвса; миастенический синдром Лэмберта-Итона; буллезный пемфигOID; пузырчатку; аутоиммунные полиэндокринопатии; болезнь Рейтера; синдром "негнувшегося человека"; болезнь Бехчета; гигантоклеточный артериит; нефрит, обусловленный иммунными комплексами; IgA-нефропатию; IgM-полиневропатию; иммунную тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП) или аутоиммунную тромбоцитопению.

Иммунная система ведет поиск аутологичных клеток, которые инфицированы вирусом, претерпели онкогенную трансформацию или представляют незнакомые пептиды на своей поверхности. Внутриклеточный протеолиз генерирует небольшие пептиды для презентации Т-лимфоцитам с целью индукции иммунных реакций, опосредованных МНС 1-го класса. Поэтому настоящее изобретение относится к способу применения протеасомного ингибитора по настоящему изобретению в качестве иммуномодулирующего агента для ингибирования или изменения презентации антигенов в клетке, включающему в себя воздействие на клетку (или введение пациенту) соединения, описанного в настоящем документе. Конкретные варианты осуществления включают в себя способ лечения заболеваний, связанных с пересадкой или трансплантатами, такими как болезнь "трансплантат-против-хозяина" или болезнь "хозяин-против-трансплантата", у пациента, включающий в себя введение терапевтически эффективного количества соединения, описанного в настоящем документе. Термин "трансплантат" в контексте настоящего документа относится к биологическому материалу, полученному от донора, для трансплантации реципиенту. Трансплантаты включают такие разнообразные материалы как, например, выделенные клетки, такие как "островковые" клетки; ткани, такие как амниотическая мембрана новорожденного, костный мозг, гематопозитические клетки-предшественники и глазная ткань, такая как ткань роговицы; и органы, такие как кожа, сердце, печень, селезенка, поджелудочная железа, щитовидная доля, легкое, почка, трубчатые органы (например, кишечник, кровеносные сосуды или пищевод) и т.д. Трубчатые органы могут использоваться для замены поврежденной части пищевода, кровеносных сосудов или желчного протока. Трансплантаты кожи можно использовать не только в случае ожогов, но также в качестве перевязочного материала для поврежденного кишечника или для того чтобы закрыть некоторые аналогичные повреждения, такие как грыжа диафрагмы. Трансплантат получают из любого источника, имеющего отношения к млекопитающим, включая человека, либо из трупа, либо от живых доноров. В некоторых случаях донором и реципиентом является один пациент. В некоторых вариантах осуществления изобретения трансплантат представляет собой костный мозг или орган, такой как сердце, и донор трансплантата и хозяин совпадают по антигенам HLA класса II.

Гистиоцитарные и дендритноклеточные неоплазии происходят от фагоцитов и аксессуарных клеток, которые играют главные роли в процессинге и презентации антигенов лимфоцитам. Было показано, что содержание содержания протеасом в дендритных клетках меняет их индуцируемые антигенами ответы (Charatte et al. Cancer Res. (2006)66:5461-5468). В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по настоящему изобретению можно вводить пациенту с гистиоцитарной или дендритноклеточной неоплазией. Гистиоцитарные и дендритноклеточные неоплазии включают гистиоцитарную саркому, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, саркому из клеток Лангерганса, саркому/опухоль из интердигитальных дендритных клеток, саркому/опухоль из фолликулярных дендритных клеток и неспецифическую саркому/опухоль из дендритных клеток.

Было показано, что ингибирование протеасомы полезно для лечения заболеваний, в результате которых пролиферирует какой-либо тип клеток, и иммунных расстройств; поэтому некоторые варианты осуществления изобретения относятся к лечению лимфопролиферативных заболеваний (LPD), ассоциированных с первичными иммунными расстройствами (PID), включающему в себя введение эффективного количества раскрытого в описании соединения пациенту, нуждающемуся в этом. Наиболее часто встречающимися в клинике случаями иммунодефицита, ассоциированными с увеличенной заболеваемостью лимфопролиферативными расстройствами, включая В-клеточные и Т-клеточные неоплазии и лимфомы, являются синдромы первичного иммунодефицита и другие первичные иммунные расстройства, инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), ятрогенная иммуносупрессия у пациентов, которые получили аллотрансплантаты солидных органов или костного мозга, и ятрогенная иммуносупрессия, ассоциированная с лечением метотрексатом. Другими PID, обычно ассоциированными с LPD, но не ограниченными этим, являются атаксия телеангиэктазия (АТ), синдром Вискотта-Олдрича (WAS), общий переменный иммунодефицит (CVID), тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), Х-связанное лимфопролиферативное заболевание (XLP), синдром Ниймеген (NBS), гипер-IgM синдром и аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS).

Ингибирование протеасомы также ассоциировано с ингибированием активации NF-κB и стабилизацией уровня p53. Поэтому композиции по настоящему изобретению также можно использовать для ингибирования активации NF-κB и стабилизации уровня p53 в культуре клеток. Так как NF-κB представляет собой ключевой регулятор воспаления, он является привлекательной мишенью для противовоспалитель-

тельного терапевтического вмешательства. Поэтому композиции по настоящему изобретению можно применять для лечения состояний, ассоциированных с воспалением, включая без ограничений COPD, псориаз, астму, бронхит, эмфизему и кистозный фиброз.

Раскрытые композиции можно использовать для лечения состояний, опосредованных напрямую протеолитической функцией протеасомы, таких как мышечное истощение, или косвенно опосредованных через белки, которые процессируются протеасомой, такие как NF-κB. Протеасома участвует в быстром удалении и посттрансляционном процессинге белков (например, ферментов), вовлеченных в клеточную регуляцию (например, клеточного цикла, транскрипции генов и метаболических путей), межклеточные контакты и иммунные реакции (например, презентацию антигенов). Конкретные примеры, обсуждаемые ниже, включают в себя β-амилоидный белок и регуляторные белки, такие как циклины и фактор транскрипции NF-κB.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция по изобретению пригодна для лечения нейродегенеративных заболеваний и состояний, включая без ограничений инсульт, ишемическое поражение нервной системы, травму нервной системы (например, сотрясение головного мозга, повреждение спинного мозга и травматическое повреждение нервной системы), рассеянный склероз и другие иммуно-опосредованные нейропатии (например, синдром Гийена-Барре и его варианты, острую моторную аксональную нейропатию, острую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию и синдром Фишера), комплексную деменцию при ВИЧ/СПИД, ахомоту, диабетическую нейропатию, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, рассеянный склероз, бактериальный, паразитарный, грибковый и вирусный менингит, энцефалит, сосудистую деменцию, мультиинфарктную деменцию, деменцию теляц Леви, деменцию лобной доли, такую как болезнь Пика, подкорковые деменции (такие как паралич Хантингтона или прогрессирующий надъядерный паралич), синдромы очаговой кортикальной атрофии (такой как первичная афазия), обменно-токсическую деменцию (такую как хронический гипотиреоз или недостаточность B12) и деменцию, вызванную инфекцией (такой как сифилис или хронический менингит).

Болезнь Альцгеймера отличается внеклеточными отложениями β-амилоидного белка (β-AP) в сенильных бляшках и сосудах мозга, β-AP представляет собой фрагмент размером от 39 до 42 аминокислот, полученный из предшественника амилоидного белка (APP). Известны по меньшей мере три изоформы APP (длиной 695, 751 и 770 аминокислот). Эти изоформы образуются в результате альтернативного сплайсинга мРНК; нормальный процессинг затрагивает часть последовательности β-AP, таким образом предотвращая образование β-AP. Полагают, что аномальный процессинг белка протеасомой вносит свой вклад в избыток β-AP в мозге при болезни Альцгеймера. APP-процессирующий фермент у крыс содержит приблизительно 10 различных субъединиц (22-32 кДа). Субъединица 25 кДа содержит N-концевую последовательность X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, которая идентична β-субъединице человеческого макропаина (Kojima, S. et al., Fed. Eur. Biochem. Soc. (1992) 304:57-60). APP-процессирующий фермент расщепляет связь Gln15--Lys16; в присутствии иона кальция фермент также расщепляет связь Met1--Asp1 и связи Asp1--Ala2, высвобождая внеклеточный домен β-AP.

Таким образом, один вариант осуществления изобретения представляет собой способ лечения болезни Альцгеймера, включающий в себя введение пациенту эффективного количества композиции по настоящему изобретению. Такое лечение включает уменьшение скорости процессинга β-AP, снижение скорости образования бляшек β-AP и уменьшение клинических признаков болезни Альцгеймера.

Также изобретение относится к способам лечения кахексии и заболеваниям, вызывающим мышечное истощение. Протеасома разрушает множество белков в созревающих ретикулоцитах и растущих фибробластах. В клетках, лишенных инсулина или сыворотки, скорость протеолиза почти удваивается. Ингибирование протеасомы уменьшает протеолиз, таким образом, уменьшая как потерю мышечного белка, так и азотную нагрузку на почки или печень. Пептидные протеасомные ингибиторы по изобретению пригодны для лечения состояний, таких как рак, хронические инфекционные заболевания, лихорадка, нарушение функций и денервация мышц (атрофия), поражение нерва, голодание, почечная недостаточность, ассоциированная с ацидозом, диабет и печеночная недостаточность (см., например, Goldberg, патент США № 5340736). Способы лечения включают в себя снижение скорости деградации мышечного белка в клетке; снижение скорости внутриклеточной деградации белка; снижение скорости деградации белка p53 в клетке и ингибирование роста связанных с p53 раковых заболеваний. Каждый из этих способов включает контакт клетки (in vivo или in vitro, например, мускулатуры пациента) с эффективным количеством фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе.

Фиброз представляет собой чрезмерное и постоянное образование шрамовой ткани, являющееся результатом гиперпролиферативного роста фибробластов, и он ассоциирован с активацией пути передачи сигналов TGF-β. Фиброз включает обширное отложение внеклеточного матрикса и может возникать фактически в любой ткани или проходить через несколько различных тканей. Обычно протеасома регулирует уровень внутриклеточного сигнального белка (Smad), который активирует транскрипцию необходимых генов при стимуляции TGF-β. Однако увеличенная деградация сигнальных компонентов TGF-β наблюдается при раковых заболеваниях и других гиперпролиферативных состояниях. Таким образом,

некоторые осуществления изобретения относятся к способу лечения гиперпролиферативных состояний, таких как диабетическая ретинопатия, макулярная дегенерация, диабетическая нефропатия, гломерулосклероз, IgA-нефропатия, цирроз, атрезия желчных протоков, застойная сердечная недостаточность, склеродермия, вызванный радиацией фиброз и легочный фиброз (идиопатический легочный фиброз, коллагеновая сосудистая болезнь, саркоидоз, интерстициальные легочные заболевания и приобретенные легочные нарушения). Лечение жертв ожогов часто затруднено фиброзом, таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор по изобретению можно местно или системно вводить для лечения ожогов. Ушивание раны после хирургической операции часто связано с обезображивающими рубцами, которые можно предотвратить ингибированием фиброза. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретения относится к способу предупреждения или уменьшения рубцевания.

Другим белком, процессируемым протеасомой, является NF-κB, член белкового семейства Rel. Семейство Rel белков-активаторов транскрипции можно разделить на две группы. Для первой группы необходим протеолитический процессинг, и она включает p50 (NF-κB1, 105 кДа) и p52 (NF-κ2, 100 кДа). Для второй группы не требуется протеолитический процессинг, и она включает в себя p65 (RelA, Rel (c-Rel) и RelB). Члены Rel-семейства могут формировать как гомо-, так и гетеродимеры; NF-κB, например, представляет собой гетеродимер p50-p65. После фосфорилирования и убиквитинилирования IκB и p105 оба эти белка разрушаются и процессируются, давая активный NF-κB, который перемещается из цитоплазмы в ядро. Убиквитинилированный p105 также процессируется очищенными протеасомами (Palombella et al., Cell (1994) 78:773-785). Активный NF-κB образует стереоспецифичный энхансерный комплекс с другими транскрипционными активаторами и, например, с HMG I (Y) индуцируя селективную экспрессию определенного гена.

NF-κB регулирует гены, вовлеченные в иммунные и воспалительные реакции и события митоза. Например, NF-κB необходим для экспрессии гена легкой цепи иммуноглобулина, гена α-цепи рецептора IL-2, гена главного комплекса гистосовместимости класса I, и ряда генов цитокинов, кодирующих, например, IL-2, IL-6, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и IFN-β (Palombella et al., Cell (1994) 78: 773-785). Некоторые осуществления изобретения включают в себя способы влияния на уровень экспрессии IL-2, MHC-I, IL-6, TNFα, IFN-β или любых других ранее указанных белков, причем каждый способ включает введение пациенту эффективного количества композиции, раскрытой в настоящем документе. Комплексы, включающие p50, являются быстрыми медиаторами острых воспалительных и иммунных реакций (Thanos, D. and Maniatis, T., Cell (1995) 80: 529-532).

NF-κB также участвует в экспрессии генов клеточной адгезии, которые кодируют E-селектин, P-селектин, ICAM и VCAM-1 (Collins, T., Lab. Invest. (1993) 68:499-508). Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к способу ингибирования клеточной адгезии (например, клеточной адгезии, опосредованной E-селектином, P-селектином, ICAM или VCAM-1), включающему в себя контакт клетки с эффективным количеством (или введение эффективного количества пациенту) фармацевтической композиции, раскрытой в настоящем документе.

Ишемия и реперфузионное поражение приводят к гипоксии, условию, при котором в ткани организма поступает недостаточное количество кислорода. Данное состояние вызывает увеличенную деградацию IκBα, тем самым приводя к активации NF-κB. Было продемонстрировано, что тяжесть поражения, приводящего к гипоксии, можно уменьшить введением ингибитора протеасомы. Поэтому изобретение относится к способу лечения ишемического состояния или реперфузионного поражения, включающему в себя введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения, раскрытого в настоящем документе. Примеры таких состояний или поражений включают без ограничений острый коронарный синдром (нестабильные атеросклеротические бляшки), окклюзионное поражение артерии (сердечная, церебральная, периферическая артериальная и сосудистая окклюзии), атеросклероз (склероз коронарных сосудов, болезнь коронарных артерий), инфаркты, сердечную недостаточность, панкреатит, гипертрофию миокарда, стеноз и рестеноз.

NF-κB также специфично связывается с ВИЧ-энхансером/промотором. По сравнению с Nef mac239 регуляторный белок ВИЧ Nef pbj14 отличается двумя аминокислотами в области, которая контролирует связывание протеинкиназы. Полагают, что протеинкиназа передает сигнал о фосфорилировании IκB, запуская деградацию IκB по убиквитинпротеасомному пути. После деградации NF-κB высвобождается в ядро, таким образом увеличивая транскрипцию ВИЧ (Cohen, J., Science, (1995) 267: 960). Настоящее изобретение относится к способу ингибирования или ослабления ВИЧ-инфекции у пациента и способу снижения уровня экспрессии вирусного гена, причем каждый способ включает введение пациенту эффективного количества композиции, раскрытой в настоящем документе.

Вирусные инфекции вносят вклад в патологию многих заболеваний. Сердечные заболевания, такие как текущий миокардит и расширенная кардиомиопатия, связаны с вирусом Коксаки В3. В сравнительных полногеномных микроматричных анализах инфицированных мышинных сердец определенные субединицы протеасомы были равномерно активированы в сердцах мышей с выраженным хроническим миокардитом (Szalay et al., Am J Pathol 168:1542-52, 2006). Некоторые вирусы используют убиквитин-протеасомную систему на стадии вхождения вируса в клетку при высвобождении вируса из эндосомы в

цитозоль. Вирус гепатита мышей (MHV) принадлежит к семейству Coronaviridae, которое также включает коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS). Yu и Lai (J Virol 79:644-648, 2005) продемонстрировали, что обработка клеток, инфицированных MHV, протеасомным ингибитором приводит к уменьшению вирусной репликации, коррелируя со снижением титра вируса по сравнению с титром необработанных клеток. Вирусу гепатита В человека (HBV), члену семейства вирусов Hepadnaviridae, аналогичным образом необходимы для размножения кодируемые вирусом белки оболочки. Ингибирование пути протеасомной деградации вызывает значительное снижение количества секретируемых белков оболочки (Simsek et al., J Virol 79:12914-12920, 2005). В дополнение к HBV другие вирусы гепатита (А, С, D и Е) также могут использовать убиквитинпротеасомный путь деградации для секреции, морфогенеза и патогенеза. Соответственно некоторые варианты осуществления изобретения относятся к способу лечения вирусной инфекции, такой как SARS или гепатит А, В, С, D и Е, включающему в себя контакт клетки с эффективным количеством (или введение эффективного количества пациенту) соединения, раскрытого в настоящем документе.

Избыточный синтез индуцируемых липополисахаридами (LPS) цитокинов, таких как $TNF\alpha$, считается основным в процессах, ассоциированных с септическим шоком. Кроме того, общепринято, что первая стадия в LPS-активации клеток представляет собой связывание LPS с определенными мембранными рецепторами, α - и β -субъединицы комплекса 20S-протеасомы были идентифицированы в качестве связывающих LPS белков, что позволяет предположить, что индуцируемая LPS передача сигнала может представлять собой важную терапевтическую мишень для лечения и предотвращения развития сепсиса (Qureshi, N. et al., J. Immun. (2003) 171: 1515-1525). Поэтому в некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению можно использовать для ингибирования $TNF\alpha$ для предупреждения и/или лечения септического шока.

Внутриклеточный протеолиз генерирует небольшие пептиды для представления Т-лимфоцитам, чтобы вызвать опосредованные МНС класса I иммунные ответы. Иммунная система ведет поиск аутологичных клеток, которые инфицированы вирусом или претерпели онкогенную трансформацию. Один вариант осуществления представляет собой способ ингибирования презентации антигена в клетке, включающий в себя воздействие на клетку композицией, описанной в настоящем документе. Дополнительный вариант осуществления изобретения представляет собой способ подавления иммунной системы пациента (например, ингибирование отторжения трансплантата, аллергии, астмы), включающий введение пациенту эффективного количества композиции, описанной в настоящем документе. Композиции по изобретению также можно использовать для лечения аутоиммунных заболеваний, таких как волчанка, ревматоидный артрит, рассеянный склероз и воспалительные заболевания кишечника (такие как язвенный колит и болезнь Крона).

Другой вариант осуществления изобретения представляет собой способ изменения репертуара антигенных пептидов, продуцируемых протеасомой или другими Ntn с мультикаталитической активностью. Например, если избирательно ингибировать PGPН-активность 20S-протеасомы, другой ряд антигенных пептидов будет продуцироваться протеасомой и представляться молекулам МНС на поверхности клеток, относительно набора, который продуцировался и представлялся бы либо без ингибирования какого-либо фермента, либо, например, при избирательном ингибировании химотрипсинаподобной активности протеасомы.

Некоторые протеасомные ингибиторы блокируют как деградацию, так и процессинг убиквитинилированного NF- κ B in vitro и in vivo. Протеасомные ингибиторы также блокируют деградацию I κ B- α и активацию NF- κ B (Palombella, et al. Cell (1994) 78: 773-785; Traenckner, et al., EMBO J. (1994) 13: 5433-5441). Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к способу ингибирования деградации I κ B- α , включающему в себя контакт клетки с композицией, описанной в настоящем документе. Дополнительный вариант осуществления изобретения представляет собой способ снижения содержания NF- κ B в клетке, мускулатуре, органе или организме пациента, включающий в себя контакт клетки, мускулатуры, органа или организма пациента с композицией, описанной в настоящем документе.

Другие эукариотические факторы транскрипции, для которых необходим протеолитический процессинг, включают основной фактор транскрипции TFIIA, вспомогательный белок вируса простого герпеса VP16 (фактор клетки-хозяина), вирусиндуцируемый IFN-регуляторный фактор 2 и мембраносвязанный белок 1, связывающий регуляторный элемент стерина.

Кроме того, изобретение относится к способам воздействия на циклинзависимые циклы эукариотических клеток, включающим в себя воздействие на клетку (in vitro или in vivo) композиции, раскрытой в настоящем описании. Циклины представляют собой белки, вовлеченные в контроль клеточного цикла. Протеасома участвует в деградации циклинов. Примеры циклинов включают в себя митотические циклины, G1-циклины и циклин В. Деградация циклинов позволяет клетке выйти из одной стадии клеточного цикла (например, митоза) и войти в другую (например, деление). Полагают, что все циклины ассоциированы с протеинкиназой p34cdc2 или родственными киназами. Сигнал мишени для протеолиза находится в аминокислотах 42-RAALGNISEN-50 (бокс деструкции). Существуют данные о том, что циклин превращается в форму, чувствительную к действию убиквитин-лигазы, или что циклинспецифичная ли-

газа активируется во время митоза (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79:13-21). Ингибирование протеасомы блокирует деградацию циклина и, следовательно, ингибирует пролиферацию клеток, например, в связанных с циклинами раковых заболеваниях (Kumatori et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87: 7071-7075). Настоящее изобретение относится к способу лечения пролиферативного заболевания пациента (например, рака, псориаза или рестеноза), включающему в себя введение пациенту эффективного количества композиции, раскрытой в настоящем документе. Также настоящее изобретение относится к способу лечения связанного с циклином воспаления у пациента, включающему в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества композиции, описанной в настоящем документе.

Дополнительные варианты осуществления изобретения включают способы влияния на протеасом-зависимую регуляцию онкогенных белков и способы лечения или ингибирования роста раковых опухолей, причем каждый способ включает воздействие на клетку (in vivo, например, на пациента, или in vitro) композиции, раскрытой в настоящем документе. Белки Е6 из HPV-16 и HPV-18 стимулируют АТФ- и убиквитинзависимую конъюгацию и деградацию p53 в неочищенных лизатах ретикулоцитов. Было показано, что рецессивный онкоген p53 накапливается при неперемесивной температуре в клеточной линии с мутированным термоллабильным Е1. Увеличенные уровни p53 могут приводить к апоптозу. Примеры протоонкогенных белков, разрушаемых в системе убиквитирирования, включают в себя c-Mos, c-Fos и c-Jun. Один вариант осуществления изобретения представляет собой способ лечения p53-связанного апоптоза, включающий в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества композиции, раскрытой в настоящем документе.

В другом варианте осуществления изобретения раскрытые композиции пригодны для лечения паразитарных инфекций, таких как инфекции, вызванные протозойными паразитами. Полагают, что протеасома данных паразитов вовлечена прежде всего в клеточную дифференцировку и репликацию (Paugam et al., Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Кроме того, было показано, что виды энтамебы теряют способность к инкапсулированию при воздействии протеасомных ингибиторов (Gonzales, et al., Arch. Med. Res. 1997, 28, Spec No: 139-140). В некоторых таких вариантах осуществления изобретения раскрытые композиции пригодны для лечения паразитарных инфекций у человека, вызванных протозойным паразитом, выбранным из видов Plasmodium (включающих P. falciparum, P. vivax, P. malariae и P. ovale, которые вызывают малярию), видов Trypanosoma (включающих T. cruzi, которая вызывает болезнь Шагаса, и T. brucei, которая вызывает африканскую сонную болезнь), видов Leishmania (включающих L. amazonensis, L. donovani, L. infantum, L. mexicana и т.д.), Pneumocystis carinii (простейшее, которое, как известно, вызывает пневмонию у пациентов со СПИД и другими иммуносупрессивными заболеваниями), Toxoplasma gondii, Entamoeba histolytica, Entamoeba invadens и Giardia lamblia. В некоторых вариантах осуществления раскрытые композиции пригодны для лечения паразитарных инфекций у животных и крупного рогатого скота, вызванных протозойными паразитами, выбранными из Plasmodium hermani, видов Cryptosporidium, Echinococcus granulosus, Eimeria tenella, Sarcocystis neurona и Neurospora crassa. Другие соединения, пригодные в качестве протеасомных ингибиторов для лечения паразитарных заболеваний, описаны в WO 98/10779, полное содержание которой включено в настоящее описание.

В некоторых вариантах осуществления раскрытые композиции необратимо ингибируют активность протеасомы в паразитах. Было показано, что такое необратимое ингибирование вызывает прекращение работы фермента без восстановления в красных клетках крови и белых клетках крови. В некоторых таких вариантах осуществления продолжительный период полужизни клеток крови может обеспечить пролонгированную защиту относительно терапии против повторного заражения паразитами. В некоторых вариантах осуществления изобретения продолжительный период полужизни клеток крови может обеспечить пролонгированную защиту относительно химиопрофилактики будущей инфекции.

Прокариоты обладают некоторым эквивалентом частицы эукариотической 20S-протеасомы. Хотя субъединичный состав 20S-частицы прокариот проще, чем у эукариот, она обладает способностью гидролизовать пептидные связи аналогичным образом. Например, нуклеофильное воздействие на пептидную связь происходит через остаток треонина на N-конце β-субъединиц. Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к способу лечения прокариотических инфекций, включающему в себя введение субъекту эффективного количества композиции протеасомного ингибитора, раскрытой в настоящем документе. Прокариотические инфекции могут включать заболевания, вызванные либо микобактериями (такие как туберкулез, лепра или язва Бурули), либо архебактериями.

Также было продемонстрировано, что ингибиторы, которые связываются с 20S-протеасомой, стимулируют образование костной ткани в культуре костной ткани. Кроме того, при системном введении таких ингибиторов мышам некоторые протеасомные ингибиторы приводили к увеличению объема и скорости образования костной ткани более чем на 70% (Garrett, I.R. et al., J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), таким образом, позволяя предположить, что убиквитинпротеасомный аппарат регулирует дифференцировку остеобластов и образование костной ткани. Поэтому раскрытые композиции можно использовать для лечения и/или предупреждения заболеваний, ассоциированных с потерей костной ткани, таких как остеопороз.

Настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или патологического состояния, выбранных из ракового заболевания, аутоиммунного заболевания, связанного с пересадкой или транс-

плантацией состояния, нейродегенеративного заболевания, связанного с фиброзом состояния, связанного с ишемией состояния, инфекции (вирусной, паразитарной или прокариотической) и заболеваний, ассоциированных с потерей костной ткани, включающему в себя введение протеасомного ингибитора по настоящему изобретению. Например, соединения формулы (5).

Костная ткань является превосходным источником факторов, способных стимулировать костные клетки. Таким образом, экстракты бычьей костной ткани содержат не только структурные белки, которые отвечают за поддержание структурной целостности кости, но также биологически активные факторы роста костной ткани, которые могут стимулировать пролиферацию костных клеток. Среди этих последних факторов находится недавно описанное семейство белков, называемых костные морфогенетические белки (BMP). Все данные факторы роста воздействуют на другие типы клеток, также как и на костные клетки, включая Hardy, M.H., et al., *Trans Genet* (1992) 8: 55-61, в которой описано свидетельство того, что костные морфогенетические белки (BMP) по разному экспрессируются в волосяных фолликулах в процессе развития. Harris, S.E., et al., *J Bone Miner Res* (1994) 9:855-863 описывает влияние TGF- β на экспрессию BMP-2 и других веществ в костных клетках. Экспрессия BMP-2 в зрелых фолликулах также происходит при созревании и после периода пролиферации клеток (Hardy, et al. (1992, выше). Таким образом, соединения по изобретению также можно использовать для стимуляции роста волосяных фолликул.

В заключение, раскрытые композиции также пригодны в качестве диагностических агентов (например, в диагностических наборах или для использования в клинических лабораториях) для скрининга белков (например, ферментов, транскрипционных факторов), процессируемых гидролазами Ntn, включая протеасому. Раскрытые композиции также пригодны в качестве реагентов для исследований специфического связывания субъединицы X/MB1 или α -цепи и ингибирования связанной с ней протеолитической активности. Например, можно определять активность (и специфические ингибиторы) других субъединиц протеасомы.

Большинство клеточных белков подвергаются протеолитическому процессингу во время созревания или активации. Ингибиторы фермента, раскрытые в настоящем документе, можно использовать для того, чтобы определить, регулируется ли клеточный процесс, процесс развития или физиологический процесс или конечный продукт протеолитической активностью определенной Ntn-гидролазы. Один такой способ включает получение организма, препарата интактных клеток или клеточного экстракта; воздействие на организм, препарат клеток или клеточный экстракт композицией, раскрытой в настоящем документе; воздействие на подвергнутый воздействию соединения организм, препарат клеток или клеточный экстракт сигналом и мониторинг процесса или конечного продукта. Высокая избирательность соединений, раскрытых в настоящем документе, позволяет быстро и точно исключить или определить участие Ntn (например, 20S-протеасомы) в конкретном клеточном процессе, процессе развития или физиологическом процессе.

Введение.

Композиции, полученные, как описано в настоящем документе, можно вводить в различных формах в зависимости от расстройства, подвергаемого лечению, и возраста, состояния и веса тела пациента, как хорошо известно в данной области. Например, для перорального введения композиций их можно составить в виде таблеток, капсул, гранул, порошков или сиропов или для парентерального введения их можно составить в виде инъекций (внутривенных, внутримышечных или подкожных), препаратов для капельной инфузии или суппозиториев. Для введения через мембрану слизистой оболочки глаза композиции можно составить в виде глазных капель или глазных мазей. Эти составы можно приготовить общепринятыми способами совместно со способами, описанными в настоящем документе, и при желании действующий ингредиент можно смешать с любой общепринятой добавкой или эксципиентом, таким как связующее вещество, вещество, улучшающее распадаемость таблеток, смазывающее вещество, корректирующее вещество, солюбилизующий агент, вспомогательное средство для суспензии, эмульгирующий агент или покрытие в дополнение к циклодекстрину и буферу. Хотя доза будет варьировать в зависимости от симптомов, возраста и веса тела пациента, природы и тяжести расстройства, предполагаемого для лечения или профилактики, пути введения и формы лекарственного средства, обычно для взрослого пациента рекомендована суточная доза от 0,01 до 2000 мг соединения, и ее можно вводить однократной дозой или дробными дозами. Количество действующего ингредиента, которое можно объединять с веществом носителя для получения единичной дозированной формы, обычно будет представлять собой такое количество соединения, которое обеспечивает терапевтический эффект. В общем, композиции, предназначенные для парентерального применения (например, внутривенной, подкожной инъекции), включают замещенный циклодекстрин. Композиции, вводимые другими путями, в частности перорально, включают замещенный или незамещенный циклодекстрин.

Точное время введения и/или количество композиции, которые приведут к максимально эффективным результатам в отношении эффективности лечения данного пациента, будут зависеть от активности, фармакокинетики и биодоступности конкретного соединения, физиологического состояния пациента (включая возраст, пол, тип и стадию заболевания, общее физическое состояние, ответ на данную дозу).

ровку и тип лекарственного препарата), пути введения и т.д. Однако приведенные выше рекомендации можно использовать в качестве основы для точного подбора лечения, например определения оптимального времени и/или количества для введения, которое не потребует более чем рутинных экспериментов, состоящих из наблюдения за пациентом и подведения дозировки и/или времени.

Фразу "фармацевтически приемлемый" используют в настоящем документе для обозначения таких лигандов, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые, по оценке медиков, подходят для использования при контактировании с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергического ответа или другой проблемы, или осложнения, соразмерного с разумным соотношением выгода/риск.

Используемая в настоящем документе фраза "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемое вещество, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, растворитель или инкапсулирующее вещество. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в том смысле, что он должен быть совместимым с другими ингредиентами препарата и не должен быть вредным для пациента. Некоторые примеры веществ, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал, картофельный крахмал, и замещенный и незамещенный β -циклодекстрин; (3) целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воск для суппозиторий; (9) масла, такие как арахисовое масло, масло хлопчатника, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоли; (11) многоатомные спирты, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатно-буферные растворы и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтические композиции по настоящему изобретению являются апирогенными, то есть не вызывают значительного повышения температуры при введении пациенту.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает относительно нетоксичные аддитивные соли неорганических и органических кислот ингибитора(ов). Такие соли можно получить *in situ* во время конечного выделения или очистки ингибитора(ов) или отдельно, осуществляя реакцию очищенного пептидного протеасомного ингибитора в его свободной основной форме с подходящей органической или неорганической кислотой и выделяя таким образом полученную соль. Типичные примеры солей включают гидробромидную, гидрохлоридную, сульфатную, бисульфатную, фосфатную, нитратную, ацетатную, валератную, олеатную, пальмитатную, стеаратную, лауратную, бензоатную, лактатную, фосфатную, тозилатную, цитратную, малеатную, фумаратную, сукцинатную, тартратную, нафтиллатную, мезилатную, глюкогептонатную, лактобионатную, лаурилсульфанатную соли и соли аминокислот и т.п. (см., например, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19).

В некоторых вариантах осуществления изобретения пептидные протеасомные ингибиторы по настоящему изобретению могут содержать одну или несколько кислых функциональных групп и, таким образом, способны к образованию фармацевтически приемлемых солей с фармацевтически приемлемыми основаниями. Термин "фармацевтически приемлемые соли" в этих случаях означает относительно нетоксичные аддитивные соли неорганических и органических оснований ингибитора(ов). Такие соли можно аналогичным образом получить *in situ* во время конечного выделения или очистки ингибитора(ов) или отдельно осуществляя реакцию очищенного ингибитора(ов) в его свободной кислотной форме с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат фармацевтически приемлемого катиона металла, с аммиаком или с фармацевтически приемлемым органическим первичным, вторичным или третичным амином. Типичные примеры солей щелочных или щелочноземельных металлов включают соли лития, натрия, калия, кальция, магния и соли алюминия и т.п. Типичные примеры органических аминов, применимых для образования аддитивных солей оснований, включают этиламин, диэтиламин, этилендиамин, этаноламин, диэтанолламин, пиперазин и т.п. (см., например, Berge et al., выше).

В композициях также могут присутствовать смачивающие вещества, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, также как и красители, агенты, способствующие высвобождению лекарственного соединения, покрытия, подсластители, вкусоароматические агенты и отдушки, консерванты и антиоксиданты.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают (1) растворимые в воде антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (БНА), бутилированный гидрокситолуол (БНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п., и (3) металлхелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Составы, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в виде капсул, саше,

пилюль, таблеток, леденцов (с использованием вкусоароматической основы, обычно сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), порошков, гранул, или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии "масло-в-воде" или "вода-в-масле", или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертного матрикса, такого как желатин и глицерин, или сахарозы и гуммиарабика), и/или в виде ополаскивателя для рта и т.п., причем каждый содержит определенное количество ингибитора(ов) в качестве действующего ингредиента. Композицию можно также вводить в виде боллуса, электуария или пасты.

В твердых лекарственных формах для перорального введения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т.п.) действующий ингредиент смешан с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или любым из нижеследующих веществ: (1) наполнители или наполнители, такие как крахмалы, циклодекстрины, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или гуммиарабик; (3) увлажняющие вещества, такие как глицерин; (4) дезинтегранты, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный крахмал или крахмал из тапиоки, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) замедлители растворения, такие как парафин; (6) ускорители абсорбции, такие как соединения четвертичного аммония; (7) смачивающие вещества, такие как, например, ацетиловый спирт и моностеарат глицерина; (8) абсорбенты, такие как каолиновая и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси; и (10) красители. В случае капсул, таблеток и пилюль фармацевтические композиции могут также содержать буферные агенты. Твердые композиции аналогичного типа можно также использовать в качестве наполнителей в мягких и полностью заполненных желатиновых капсулах, используя такие вспомогательные вещества, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

Таблетку можно изготовить прессованием или формовкой необязательно с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки можно изготовить, используя связующее вещество (например, желатин или гидроксипропилметилцеллюлозу), смазывающее вещество, инертный разбавитель, консервант, вещество, дезинтегрант (например, натрия крахмала гликолят или перекрестно сшитую карбоксиметилцеллюлозу натрия), поверхностно-активный или диспергирующий агент. Формованные таблетки можно изготовить формованием в подходящем аппарате смеси порошкового ингибитора(ов), увлажненного инертным жидким разбавителем.

Таблетки и другие твердые лекарственные формы, такие как драже, капсулы, пилюли и гранулы, необязательно могут иметь насечку или могут быть изготовлены с покрытием или оболочкой, таким как энтерорастворимые покрытия и другие покрытия, известные в фармацевтике. Также их можно изготовить таким образом, чтобы обеспечить замедленное или контролируемое высвобождение действующего ингредиента, используя в них, например, гидроксипропилметилцеллюлозу в различных пропорциях для того, чтобы обеспечить желаемый профиль высвобождения, другие полимерные матриксы, липосомы и/или микросферы. Их можно стерилизовать, например, фильтрацией через задерживающий бактерии фильтр или включением стерилизующих агентов в виде стерильных твердых композиций, которые можно растворить в стерильной воде или какой-либо другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед использованием. Такие композиции необязательно могут также содержать опалесцирующие компоненты и могут представлять собой композиции, которые высвобождают действующий ингредиент(ы) только или предпочтительно в определенном отделе желудочно-кишечного тракта необязательно замедленно. Примеры композиций для включения в них действующих ингредиентов, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Действующий ингредиент также можно заключить в микрокапсулы при необходимости с одним или несколькими из описанных выше вспомогательных веществ.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают в себя фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. В дополнение к действующему ингредиенту жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутенгликоль, масла (в частности, хлопчатника, арахисовое, кукурузное, из зародышей пшеницы, оливковое, касторовое и кунжутное), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот сорбитана и их смеси.

Кроме инертных разбавителей, композиции для перорального введения могут также включать в себя адьюванты, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, вкусоароматические агенты, красители, отдушки и консерванты.

Суспензии в дополнение к действующему ингибитору(ам) содержат суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксидиленовые сложные эфиры сорбитана и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метатгидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трага-

кант и их смеси.

Составы для ректального или вагинального введения можно представить в виде суппозитория, который можно изготовить, смешивая один или несколько ингибиторов с одним или несколькими подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, содержащими, например, масло какао, полиэтиленгликоль, воск для суппозитория или салицилат, которые являются твердыми при комнатной температуре, но жидкими при температуре тела, и которые поэтому будут плавиться в прямой кишке или вагинальной полости и высвобождать действующий агент.

Составы, которые подходят для вагинального введения, также включают составы в виде pessaries, тампонов, кремов, гелей, паст, пенек или спреев, содержащих такие носители, которые, как известно в данной области, являются подходящими.

Дозированные формы для местного или трансдермального введения ингибитора(ов) включают в себя порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингаляторы. Действующий компонент можно смешивать в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться.

Мази, пасты, кремы и гели в дополнение к ингибитору(ам) могут содержать вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевая кислота, тальк и оксид цинка или их смеси.

Порошки и спреи в дополнение к ингибитору(ам) могут содержать эксципиенты, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и порошок полиамидов или смеси этих веществ. Спреи могут дополнительно содержать общепринятые пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды, и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Пептидный протеасомный ингибитор можно вводить с помощью аэрозоля. Это осуществляют, получая водный аэрозоль, липосомный препарат или твердые частицы, содержащие композицию. Можно использовать неводную суспензию (например, фторуглеродный пропеллент). В некоторых вариантах осуществления изобретения предпочтительны ультразвуковые распылители, поскольку они минимизируют усилия сдвига, воздействующие на агенты, которые могут привести к деградации соединения.

Обычно водный аэрозоль получают, изготавливая водный раствор или суспензию агента вместе с общепринятыми фармацевтически приемлемыми носителями и стабилизаторами. Носители и стабилизаторы могут варьировать в зависимости от требований к конкретной композиции, но, как правило, включают неионогенные поверхностно-активные вещества (различные варианты Tween, Pluronic, сложные эфиры сорбитана, лецитин, кремофоры), фармацевтически приемлемые сорастворители, такие как полиэтиленгликоли, нетоксичные белки, такие как сывороточный альбумин, сложные эфиры сорбитана, олеиновую кислоту, аминокислоты, такие как глицин, буферы, соли, сахара или сахарные спирты. Аэрозоли обычно изготавливают из изотонических растворов.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество в том, что они обеспечивают контролируемую доставку ингибитора(ов) в организм. Такие лекарственные формы можно изготовить, растворяя или диспергируя агент в соответствующей среде. Также можно использовать ускорители абсорбции, для того чтобы ускорить перенос ингибитора(ов) через кожу. Скорость такого переноса можно контролировать либо при помощи контролирующей скорости мембраны, либо диспергируя ингибитор(ы) в полимерном матриксе или геле.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, содержат один или несколько пептидных протеасомных ингибиторов в комбинации с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми стерильными водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, либо стерильными порошками, которые можно восстановить в стерильные растворы или дисперсии для инъекций непосредственно перед использованием, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические агенты, растворимые вещества, которые придают препарату изотоничность крови предполагаемого реципиента, или суспендирующие агенты или загустители.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтических композициях по изобретению, включают в себя воду для инъекций (например, стерильную воду для инъекций), этанол, многоатомные спирты (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.), буферы (такие как цитратный буфер) и подходящие их смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, используя покрытия, такие как лецитиновое, поддерживая требуемый размер частиц в случае дисперсии и используя поверхностно-активные вещества.

Фармацевтические композиции, как правило, включают в себя фармацевтически приемлемый носитель. В контексте настоящего документа выражение "фармацевтически приемлемый носитель" включает в себя буфер, стерильную воду для инъекций, растворители, дисперсионную среду, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие абсорбцию агенты и т.п., совместимые с введением фармацевтических препаратов. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемым носителем является буфер (например, цитратный буфер). В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемым носителем является стериль-

ная вода для инъекций. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтически приемлемый носитель содержит лимонную кислоту.

Эти композиции также могут содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предупредить действие микроорганизмов можно добавлением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т.п. Также может быть желательно включить в композиции регулирующие тоничность агенты, такие как сахара и т.п. В дополнение пролонгированную абсорбцию фармацевтической формы для инъекций можно осуществить, включая агенты, которые задерживают абсорбцию, например моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях для продления действия лекарственного соединения желательно замедлить его абсорбцию при подкожной или внутримышечной инъекции. Например, замедленное всасывание парентерально вводимой лекарственной формы соединения осуществляют, растворяя или суспендируя лекарственное соединение в масляном носителе.

Инъецируемые лекарственные формы пролонгированного действия (депо-формы) изготавливают, получая матриксы с микроинкапсулированным ингибитором(ами) в биodeградируемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения лекарственного средства. Примеры других биodeградируемых полимеров включают в себя сложные поли(ортоэфир)ы и поли(ангидриды). Депо-составы для инъекций также получают, заключая лекарственное соединение в липосомы или микроэмульсии, совместимые с тканью организма.

Препараты лекарственных агентов можно вводить перорально, парентерально, местно или ректально. Их, конечно, вводят в формах, подходящих для каждого способа введения. Например, их вводят в виде таблеток или капсул, инъекцией, ингаляцией, в виде глазного лосьона, мази, суппозитория, инфузий; местно в виде лосьона или мази и ректально суппозиториями. В некоторых вариантах осуществления изобретения введение является пероральным.

Используемые в настоящем документе фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально" означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно с помощью инъекций, и включают без ограничений внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интра-текальную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интратермальную инъекцию и инфузию.

Используемые в настоящем документе фразы "системное введение", "вводимый системно", "периферическое введение" и "вводимый периферически" означают введение лиганда, лекарственного соединения или другого вещества способом кроме непосредственного введения в центральную нервную систему, так чтобы препарат поступал в систему пациента и, таким образом, подвергался метаболизму и другим аналогичным процессам, например подкожное введение.

Пептидные протеасомные ингибиторы, описанные в настоящем документе, можно вводить человеку и другим животным для лечения любым подходящим способом введения, включая пероральное, назальное, такое как, например, с помощью спрея, ректальное, интравлагинальное, парентеральное, интрацистермальное и местное, а также посредством порошков, мазей или капель, включая буккальное и сублингвальное.

Вне зависимости от выбранного способа введения пептидный протеасомный ингибитор, который можно использовать в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению получают в фармацевтически приемлемых лекарственных формах общепринятыми способами, известными опытным специалистам в данной области.

Фактический уровень дозировок действующих ингредиентов в фармацевтических композициях по данному изобретению можно варьировать, для того чтобы получить количество действующего ингредиента, которое эффективно для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не являясь токсичным для пациента.

Концентрация раскрытого соединения в фармацевтически приемлемой смеси будет варьировать в зависимости от нескольких факторов, включающих дозировку вводимого соединения, фармакокинетические характеристики используемого(ых) соединения(ий) и способ введения. В общем, для парентерального введения композиции по изобретению можно предоставить в водном растворе, содержащем приблизительно 0,1-10% (мас./об.) соединения, раскрытого в настоящем документе, помимо других веществ. Типичные пределы дозировок находятся в диапазоне от приблизительно 0,01 до приблизительно 50 мг/кг веса тела в день, при введении в 1-4 дробных дозах. Каждая дробная доза может содержать те же самые или различные соединения. Дозировка будет представлять собой эффективное количество в зависимости от нескольких факторов, включающих общее здоровье пациента и состав и способ введения выбранного(ых) соединения(ий).

В другом варианте осуществления изобретения фармацевтической композицией является раствор для перорального введения или раствор для парентерального введения. Другой вариант осуществления представляет собой лиофилизированный препарат, который можно восстановить перед введением. В

твердом варианте состав также может включать таблетки, капсулы или порошки.

Также изобретение относится к комбинированной терапии, при которой один или несколько других терапевтических агентов вводят совместно с пептидным протеасомным ингибитором. Такое комбинированное лечение можно осуществлять одновременным, последовательным или отдельным введением дозировок индивидуальных компонентов лечения.

В некоторых вариантах осуществления композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими другими протеасомным(и) ингибитором(ами).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими химиотерапевтическими препаратами. Подходящие химиотерапевтические препараты могут включать природные продукты, такие как алкалоиды барвинка (а именно винбластин, винкристин и винорелбин), таксаны (например, доцетаксел, паклитаксел, например, доцетаксел), эпидиподофиллотоксины (а именно этопозид, тенипозид), антибиотики (дактиномицин (актиномицин D), даунорубин, доксорубин и идарубин; например, доксорубин), антрациклины, митоксантрон, блеомицины, пликамицин (митрамицин) и митомицин, ферменты (L-аспарагиназу, которая системно метаболизирует L-аспарагин и удаляет клетки, которые не обладают способностью синтезировать свой собственный аспарагин); антитромбоцитарные агенты; антипролиферативные/антимитотические алкилирующие агенты, такие как азотистые иприты (мехлорэтамин, ифосфамид, циклофосфамид и аналоги, мелфалан, хлорамбуцил; например, мелфалан), этиленимины и метилмеламины (гексаметилмеламин и тиотепу), алкилированные сульфонаты (бусульфат), нитрозомочевину (кармустин (BCNU) и аналоги, стрептозоцин), триазен-дакарбазин (DTIC); антипролиферативные/антимитотические антиметаболиты, такие как аналоги фолиевой кислоты (метотрексат), аналоги пиримидина (фторурацил, флоксурин и цитарабин), аналоги пурина и родственные ингибиторы (меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин и 2-хлордезоксиаденозин); ингибиторы ароматазы (анастрозол, экземестан и летрозол); платиновые координационные комплексы (цисплатин, карбоплатин), прокарбазин, гидроксимочевину, митотан, аминоклутетимид; ДНК-связывающие/цитотоксические агенты (например, залписис); ингибиторы гистондиацетилазы (HDAC) (например, трихостатин, бутират натрия, апицидан, субероиланилид гидроксамовой кислоты (SAHA (вориностат)), трихостатин А, депсипептид, апицидин, А-161906, скриптаид, PXD-101, CHAP, масляную кислоту, депудецин, оксамфлатин, фенилбутират, вальпроовую кислоту, MS275 (N-(2-аминофенил)-4-[N-(пиридин-3-илметокси-карбонил)аминометил]бензамид), LAQ824/LBH589, CI994, MGCD0103, ACI-1215, панобиностат); гормоны (а именно эстроген) и гормональные агонисты, такие как агонисты гормона, высвобождающего лютинизирующий гормон (LHRH) (гозерелин, леупролид и трипторелин). Другие химиотерапевтические агенты могут включать мехлорэтамин, камптотецин, ифосфамид, тамоксифен, ралоксифен, гемцитабин, навельбин или любой аналог или вариант производного указанных выше соединений.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами гистондиацетилазы (HDAC) (например, трихостатином, бутиратом натрия, апициданом, субероиланилидом гидроксамовой кислоты (SAHA (вориностат)), трихостатином А, депсипептидом, апицидином, А-161906, скриптаидом, PXD-101, CHAP, масляной кислотой, депудецином, оксамфлатином, фенилбутиратом, вальпроовой кислотой, MS275 (N-(2-аминофенил)-4-[N-(пиридин-3-илметокси-карбонил)аминометил]бензамидом), LAQ824/LBH589, CI994, MGCD0103, ACI-1215, панобиностатом; например, SAHA, ACI-1215, панобиностатом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими азотистыми ипритами (мехлорэтамином, ифосфамидом, циклофосфамидом и аналогами, мелфаланом, хлорамбуцилом, например, мелфаланом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ДНК-связывающими/цитотоксическими агентами (например, залписисом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг

карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими таксанами (например, доцетакселом, паклитакселом, например, доцетакселом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими антибиотиками (дактиномицином (актиномицином D), даунорубицином, доксорубицином и идарубицином; например, доксорубицином).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими цитокинами. Цитокины включают, без ограничения, интерферон- γ , - α и - β , интерлейкины 1-8, 10 и 12, гранулоцитономоцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), TNF- α и - β , и TGF- β .

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими стероидами. Подходящие стероиды могут включать, но не ограничены этим, 21-ацетоксипрегненолон, алклометазон, алгестон, амцинионид, беклометазон, бетаметазон, будезонид, хлорпреднизон, клобетазол, клокортолон, клопреднол, кортикостерон, кортизон, кортивазол, дефлазокорт, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дифлоразон, дифлукортолон, дифупреднат, эноксолон, флазакарт, флуоклоронид, флуметазон, флунизол, флуоцинолона ацетонид, флуоцинонид, флуокортинбутил, флуокортолон, флуорометолон, флуперолона ацетат, флупреднидена ацетат, флупреднизолон, флурандренолид, флутиказона пропионат, формокортал, галцинионид, галобетазола пропионат, галометазон, гидрокортизон, лотепреднола этабонат, мазипредон, медризон, мепреднизон, метилпреднизолон, мометазона фураат, параметазон, предникарбат, преднизолон, преднизолона 25-диэтиламиноацетат, преднизолона фосфат натрия, преднизон, преднивал, преднилиден, римексолон, тиксокортол, триамцинолон, триамцинолона ацетонид, триамцинолона бенетонид, триамцинолона гексациетонид и их соли и/или производные (например, гидрокортизон, дексаметазон, метилпреднизолон и преднизолон; например, дексаметазон).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению вводят совместно с дексаметазоном (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)). В некоторых вариантах осуществления изобретения совместная терапия включает схемы дозирования, приведенные в описании к препарату KYPROLIS, например,

1. KYPROLIS вводят внутривенно за 2-10 мин в течение двух последовательных дней, каждую неделю в течение трех недель (дни 1, 2, 8, 9, 15 и 16), затем следует 12-дневный период отдыха (дни с 17 до 28). Каждый 28-дневный период считается одним циклом лечения (табл. А).

В 1-м цикле KYPROLIS вводят в дозировке 20 мг/м². При переносимости в 1-м цикле дозировку следует повысить до 27 мг/м², начиная со 2-го цикла, и продолжать введение в дозировке 27 мг/м² в последующих циклах. Лечение может быть продолжено до прогрессирования заболевания или до возникновения неприемлемой токсичности.

Доза рассчитывается с использованием фактической площади поверхности тела пациента в начале исследования. Пациенты с площадью поверхности тела больше 2,2 м² должны получать дозу на основе площади поверхности тела 2,2 м². Корректировку дозы можно не проводить при изменении веса тела на величину меньше или равную 20%.

Таблица А1

Схема дозирования KYPROLIS для пациентов с множественной миеломой

KYPROLIS (20 мг/м ²)	Цикл 1									
	Неделя 1			Неделя 2			Неделя 3			Неделя 4
	День 1	День 2	Дни 3-7	День 8	День 9	Дни 10-14	День 15	День 16	Дни 17-21	Дни 22-28
	20	20	Нет введения	20	20	Нет введения	20	20	Нет введения	Нет введения
KYPROLIS (27 мг/м ²)	Цикл 2 и последующие циклы ^a									
	Неделя 1			Неделя 2			Неделя 3			Неделя 4
	День 1	День 2	Дни 3-7	День 8	День 9	Дни 10-14	День 15	День 16	Дни 17-21	Дни 22-28
	27	27	Нет введения	27	27	Нет введения	27	27	Нет введения	Нет введения

^a - при переносимости дозировок предшествующих циклов.

2. Пациенты должны получать достаточное количество воды для снижения риска почечной токсичности и синдрома лизиса опухоли (TLS) при лечении препаратом KYPROLIS. Следует поддерживать адекватное содержание воды в организме на протяжении всего лечения и тщательно контролировать биохимические параметры крови. Перед введением каждой дозы в цикле 1 пациенту следует внутривенно ввести 250-500 мл физиологического раствора или других жидкостей, подходящих для внутривенного введения. При необходимости после введения KYPROLIS следует ввести дополнительно 250-500 мл жидкости внутривенно. При необходимости следует продолжить внутривенную гидратацию в последующих циклах. Также в течение этого периода следует наблюдать за состоянием пациентов на предмет переизбытка жидкости.

3. Предварительно следует ввести дексаметазон 4 мг перорально или внутривенно до введения всех доз KYPROLIS во время 1-го цикла и до введения всех доз KYPROLIS во время первого цикла увеличения дозировки до 27 мг/м², для того чтобы снизить частоту и тяжесть инфузионных реакций. Повторить предварительное введение дексаметазона (4 мг перорально или внутривенно) при развитии или появлении этих симптомов во время последующих циклов.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами. Подходящие иммунотерапевтические агенты могут включать без ограничения MDR-модуляторы (верапамил, валспордар, бирикодар, тариквидар, ланиквидар), циклоспорин, талидомид, CC-4047 (актимид), леналидомид (ревлимид) и моноклональные антитела. Моноклональные антитела могут быть либо простыми, либо конъюгированными, такими как ритуксимаб, тозитумомаб, алемтузумаб, еспратузумаб, ибритутомаб тиуксетан, гемтузумаб озогамицин, бевацизумаб, цетуксимаб, эрлотиниб и трастузумаб. В некоторых вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию по настоящему изобретению совместно вводят с леналидомидом (ревлимидом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами топоизомеразы (например, иринотеканом, топотеканом, камптотецином, ламелларинном D и этопозидом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами m-TOR (например, CCI-779, AP23573 и RAD-001).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами протеинкиназ (например, сорафенибом, иматинибом, дазатинибом, сунитинибом, пазопанибом и нилотинибом; например, сорафенибом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами CDK (например, динациклибом).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами KSP (Eg5) (например, ARRY 520).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, GS-1101 PI3K).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими двойными ингибиторами: ингибиторами PI3K-дельта и -гамма (например, CAL-130).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими мультикиназными ингибиторами (например, TG02).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, TGR-1202).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию по изобретению (например, фармацевтические композиции, включающие карфилзомиб, например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с

(i) одним или несколькими из следующих соединений:

одним или несколькими вторыми химиотерапевтическими агентами (например, одним или несколькими ингибиторами HDAC, например, SAHA, ACY-1215, панобиностатом; одним или несколькими азотистыми ипритами, например, мелфаланом;

одним или несколькими ДНК-связывающими/цитотоксическими агентами, например, зилаписом; одним или несколькими таксанами, например, доцетакселом;

одним или несколькими антибиотиками (дактиномицином (актиномицином D), даунорубицином, доксорубицином и идарубицином; например, доксорубицином);

одним или несколькими другими протеасомными ингибиторами (например, другим соединением формулы (1)-(5));

одним или несколькими цитокинами;

одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами (например, ревлимидом);

одним или несколькими топоизомеразными ингибиторами;

одним или несколькими ингибиторами m-TOR;

одним или несколькими ингибиторами протеинкиназы (например, сорафенибом);

одним или несколькими ингибиторами CDK (например, динациклибом);

одним или несколькими ингибиторами KSP (Eg5) (например, ARRY 520);

одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, GS-1101 PI3K);

одним или несколькими двойными ингибиторами: ингибиторами PI3K-дельта и -гамма (например, CAL-130);

одним или несколькими мультикиназными ингибиторами (например, TG02);

одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, TGR-1202);

и

(ii) одним или несколькими стероидами (например, дексаметазоном).

В некоторых вариантах осуществления изобретения композицию, которая включает карфилзомиб (например, KYPROLIS, который содержит 60 мг карфилзомиба, 3000 мг сульфобутилового эфира бета-циклодекстрина, 57,7 мг лимонной кислоты и гидроксид натрия для доведения pH (целевого pH 3,5)) вводят совместно с

(i) одним или несколькими из следующих соединений:

одним или несколькими вторыми химиотерапевтическими агентами (например, одним или несколькими ингибиторами HDAC, например, SAHA, ACY-1215, панобиностатом;

одним или несколькими азотистыми ипритами, например, мелфаланом; одним или несколькими ДНК-связывающими/цитотоксическими агентами, например, зилаписом;

одним или несколькими таксанами, например, доцетакселом;

одним или несколькими антибиотиками (дактиномицином (актиномицином D), даунорубицином, доксорубицином и идарубицином; например, доксорубицином);

одним или несколькими другими протеасомными ингибиторами (например, другим соединением формулы (1)-(5));

одним или несколькими цитокинами;

одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами (например, ревлимидом);

одним или несколькими топоизомеразными ингибиторами;

одним или несколькими ингибиторами m-TOR;

одним или несколькими ингибиторами протеинкиназы (например, сорафенибом);

одним или несколькими ингибиторами CDK (например, динациклибом);

одним или несколькими ингибиторами KSP (Eg5) (например, ARRY 520);

одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, GS-1101 PI3K);

одним или несколькими двойными ингибиторами: ингибиторами PI3K-дельта и -гамма (например, CAL-130);

одним или несколькими мультикиназными ингибиторами (например, TG02);
 одним или несколькими ингибиторами PI3K-дельта (например, TGR-1202);
 и
 (ii) дексаметазоном.

Примеры

Пример 1. Получение суспензии действующего фармацевтического ингредиента - карфилзомиба (CFZ-API) в сульфобутиловом простом эфире β -циклодекстрина (SBECD).

В этом примере описано получение суспензии CFZ-API в SBECD в общем объеме продукта 400 л. Меньшие объемы продукта, такие как объемы 290, 90 и 1-3 л, получали в равных пропорциях компонентов.

В емкости из нержавеющей стали объемом 525 л с рубашечным охлаждением, температуру которой поддерживали равной 2-8°C, получали суспензию из 2,0 кг карфилзомиба-API (CFZ-API), 246 кг воды для инъекций (WFI) и 100 кг сульфобутилового простого эфира бета-циклодекстрина (SBECD). Более конкретно, в емкости из нержавеющей стали объемом 525 л с рубашечным охлаждением, температуру которой поддерживали равной 2-8°C, растворяли 100 кг SBECD в 246 кг WFI. Затем получали суспензию карфилзомиба, используя 2,0 кг CFZ-API. Смешивание проводили, используя лопастную мешалку для поддержания в суспензии твердого CFZ-API и растворения SBECD. В том же сосуде кроме лопастной мешалки с низким усилием сдвига использовали зондовое роторно-статорное перемешивающее устройство с высоким усилием сдвига (гомогенизатор). Длительность работы перемешивающего устройства с высоким усилием сдвига составляла приблизительно 1 ч, давая в результате однородную суспензию и снижая размер частиц для любых более крупных исходных частиц или агломерированного API. После получения суспензии добавляли 1,96 кг лимонной кислоты в виде 16%-го водного раствора. pH раствора затем снижался, вызывая частичную солюбилизацию CFZ-API с последующим комплексобразованием вследствие присутствия SBECD. Смешивание продолжали в течение дополнительных 24 ч с помощью как лопастной мешалки, так и перемешивающего устройства с высоким усилием сдвига, и получали концентрацию растворенного CFZ-API выше 5,1 мг/мл. Суспензию, содержащую более чем 5,1 мг/мл растворенного и находящегося в комплексе CFZ-API, фильтровали через осветляющий фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, затем точно разбавляли до концентрации растворенного соединения 5,0 мг/мл, и подносили pH, используя 1N раствор гидроксида натрия, до pH 3,5. Раствор стерилизовали фильтрованием с помощью двух последовательных стерилизующих фильтров с диаметром пор 0,22 мкм, и затем наполняли им флаконы по 12,36 мл в каждый, содержащие по 61,8 мг CFZ-API на флакон. Флаконы частично укупоривали и загружали в лиофилизатор, и проводили сушку при замораживании в течение 103 ч, используя температуру замораживания -45°C, температуру первичной сушки -15°C и температуру вторичной сушки +30°C. Флаконы после лиофилизации полностью укупоривали и закрывали крышкой, а затем хранили при температуре стабильности продукта 2-8°C до двух лет перед использованием. При использовании содержимое флакона восстанавливали стерильной водой для инъекций, получая восстановленный раствор для инъекций с концентрацией 2 мг/мл, имеющий pH 3,5 и тоничность, приемлемые для непосредственной инъекции пациентам. В альтернативном варианте восстановленный раствор дополнительно разбавляли в мешке для внутривенного введения для дополнительного разбавления и инфузии, не вызывая выпадения осадка.

Как показано на фиг. 1, способ комплексобразования на основе взвеси приводит к увеличению солюбилизации CFZ-API со временем (более чем 5 мг/мл, что значительно превышает исходную растворимость CFZ-API в воде, составляющую ниже 10 мг/мл). В дополнение, способ меньше зависит от физико-химических свойств CFZ-API (например, размера частиц, площади поверхности, степени агломерации, полиморфной формы и т.д.). В отличие от большинства вариантов получения или исследования фармацевтических препаратов скорость растворения (или скорость солюбилизации) в этом способе по сути не зависит от размера частиц API (см., например, фиг. 2), поскольку способ обеспечивает равную степень солюбилизации за 24-часовой период, отведенный для комплексобразования, вне зависимости от того, имеет ли API большой или маленький средний размер частиц API (21,1 и 7,5 мкм соответственно). Кроме того, было определено, что в описанном выше способе более высокие концентрации SBECD увеличивали растворимость CFZ-API (см. фиг. 3). Наконец, наблюдалось, что растворимость находящихся в комплексе CFZ/SBECD по сути не зависела от температуры получения или хранения (см., например, фиг. 4, на которой показана зависимость степени солюбилизации от концентрации SBECD при pH 3,5 для двух температур 5 и 25°C, не показывающая видимой разницы). Поэтому предпочтительны более низкие температуры получения (2-8°C) для минимизации возможности любой из термоиндуцируемых реакций деградации, которые могут возникнуть. В других способах чаще для увеличения растворимости необходимы более высокие температуры, однако в этом способе более высокая растворимость достигается посредством увеличения концентрации циклодекстрина и/или pH, а не увеличением температуры, и это дает возможность минимизировать образования продуктов термической деградации в этом способе.

Пример 2. Эффект хлорид-иона на стабильность карфилзомиба.

Проводили мультивариантную статистическую схему экспериментов для оценки факторов, контролирующих уровень продукта хлоргидриновой деградации как функции параметров получения и времени

хранения за шесть месяцев. Комплексообразование проводили в пропорциях и параметрах, приведенных в примере 1, со следующими модификациями: (i) комплексообразование проводили в общем объеме 2 л; (ii) конечный pH раствора перед заполнением флаконов меняли для экспериментальных целей с 3,0 до 4,0; (iii) в некоторых экспериментах в SBECD добавляли хлорид натрия, чтобы создать высокое содержание хлорида натрия; (iv) содержание воды в лиофилизированном конечном продукте в закупоренных флаконах получали при высоком и низком содержании хлорида натрия посредством более ранней остановки и укупоривания флаконов, для того чтобы создать более высокое содержание остаточной воды.

Материалы.

Позиция	Таблица 2 Изготовитель
Лекарственное соединение карфилзомиб	Cambridge Major Laboratories
Лимонная кислота, безводная	J.T. Baker
Сульфобутиловый простой эфир β -циклодекстрина (Captisol®)	CyDex Pharmaceuticals, Inc.
Хлорид натрия	EMD Chemicals, Inc.
Вода для инъекций	EMD Chemicals, Inc.
Раствор гидроксида натрия 1,000 N	EMD Chemicals, Inc.
Мешалка с верхним расположением (лопастная, низкое усилие сдвига)	IKA Works
Лопасты	Нет информации
Мешалка с высоким усилием сдвига	Silverson
Водяная баня с рециркуляцией	Thermo Electron Corp
Литые стеклянные флаконы (объем 50 мл, диаметр горловины 20 мм)	Wheaton
Пробки FluroTec с одним отверстием, диаметром 20 мм	West Pharma
Genesis SQ 35 EL Freeze-Dryer	Virtis
Фильтр для шприца, 0,22 мкм	Millipore
PES-фильтровальная система, 0,22 мкм	Corning
pH-метр	Beckman
pH-электрод	Orion ROSS
Буфер, pH 1,68	ThermoElectron Corp.
Буфер, pH 4,0	VWR

Способы.

Способ комплексообразования.

Раствор нефасованного находящегося в составе комплекса карфилзомиба для инъекции перед лиофилизацией включал водный карфилзомиб 5 мг/мл, Captisol® (SBECD) 250 мг/мл и лимонную кислоту 4,86 мг/мл, pH доведен водным раствором гидроксида натрия. Приготовление нефасованных растворов для лиофилизации осуществляли по методике, подробно описанной в примере 1, со следующими модификациями, для того чтобы создать растворы, имеющие различные специфичные признаки:

1. pH подвели до 3,0 и 4,0.

2. Хлорид натрия добавляли в Captisol®, для того чтобы получить "высокое содержание хлорида".

Captisol®, изготовленный Cydex, дочерней компаний Ligand, имеет согласно стандартному анализу продукта диапазон содержания хлорида натрия от 0,05 до 0,2% (мас./об.). В эксперименте использовали одну партию Captisol®, которая имела низкое содержание хлорида, только 0,05% (мас./об.) в виде хлорида натрия. 400 г этого Captisol® требовалось на изготовление одной партии для способа комплексообразования, проводимого в масштабе 2 л (в таких же пропорциях и с использованием общих параметров, как в примере 1). Чтобы создать "высокое содержание хлорида", 0,6 г NaCl добавляли к 399,4 г Captisol®, что, таким образом, имитировало количество, которое содержала бы партия Captisol® с 0,2%-м содержанием хлорида.

Ллиофилизация.

С целью создания двух вариантов содержания жидкости во флаконах после конечной лиофилиза-

ции лиофилизировали два набора образцов по 61,8 мг/флакон (CFZ-API). Первый цикл генерировал набор флаконов с "сухими" образцами, содержащими приблизительно 0,6% остаточной воды при параметрах лиофилизации, указанных в примере 1. Для второго набора образцов лиофилизацию останавливали, и флаконы укупоривали раньше на второй стадии сушки, для того чтобы создать флаконы с "влажными" образцами с остаточной влажностью, исходно составляющей приблизительно 2,4% воды на флакон.

В качестве контроля получали одну партию плацебо, содержащую 250 мг/мл Cartisol® и 4,86 мг/мл лимонной кислоты, с рН, подведенным до рН 3,5 с помощью NaOH.

Аналитическое тестирование.

Для точной количественной оценки концентрации растворенного и находящегося в комплексе лекарственного соединения карфилзомиба, нефасованный раствор находящегося в комплексе карфилзомиба анализировали в процессе изготовления с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Позднее добавляли дополнительную воду для точного разведения нефасованного раствора карфилзомиба, находящегося в комплексе. После этой стадии разведения повторно проводили ВЭЖХ, для того чтобы убедиться в получении заданной концентрации 5,0 мг/мл. Образцы трех конечных нефасованных растворов анализировали, для того чтобы подтвердить силу действия и чистоту препарата, с помощью ВЭЖХ. Стабильность образцов анализировали через шесть месяцев хранения при 5 и 25°C с помощью ВЭЖХ на их силу действия и чистоту. Для определения содержания воды в лиофилизированном препарате лекарственного соединения использовали колориметрический метод Карла Фишера.

Обработка данных.

Для анализа результатов использовали Stat-Ease DX7.

Результаты.

Результаты по образованию продукта хлоргидриновой деградации (CDP) через 6 месяцев при 5 и 25°C суммированы в табл. 3 ниже.

Таблица 3

рН	Вода (%)	Хлорид натрия (%)	% площади пика CDP через 6 месяцев (данные ВЭЖХ)	
			5 °C	25 °C
4,00	2	0,05	0,02	0,35
3,00	2	0,05	0,02	0,55
3,00	0,7	0,05	0,00	0,14
4,00	0,7	0,05	0,00	0,09
4,00	2	0,2	0,18	1,71
3,00	2	0,2	0,28	2,57
4,00	0,7	0,2	0,08	0,36
3,00	0,7	0,2	0,13	0,70

Анализ методом ANOVA (табл. 4 и 5 ниже) содержания CDP показал, что содержание хлорида является главным фактором в образовании CDP. Высокое содержание хлорида приводит к более высоким уровням CDP. Даже при низком уровне содержания хлорида (0,05% (мас./об.)) все еще наблюдается образование хлоргидрина, но в приемлемо низкой концентрации по сравнению с 0,2%-м содержанием хлорида. В дополнение, препарат лекарственного соединения, содержащий низкий уровень хлорид-иона, показывал неприемлемый уровень образования хлоргидринового продукта при 25°C после 6 месяцев хранения. На фиг. 5 проиллюстрировано взаимодействие между CDP и двухфакторным взаимодействием воды и содержания хлорида. Верхняя линия соответствует высокому содержанию хлорида, а нижняя линия - низкому содержанию хлорида. По оси x отложено содержание воды с 0,7% слева и 2% справа. При более высоком содержании хлорида увеличивается уровень продукции CDP. Это увеличение еще более очевидно при более высоком содержании воды, как можно увидеть из наклона верхней кривой. При низком содержании хлорида наблюдается небольшая разница между высоким и низким содержанием воды.

Таблица 4
Анализ ANOVA - CDP (RRT 0,86) через 6 месяцев, 5°C
Ответ 1 CDP (RRT 0,87) через 6 месяцев, 5°C
ANOVA для выбранной факториальной модели
Анализ таблицы переменных [частичная сумма квадратов - тип III]

Источник	Сумма квадратов	df	Средний квадрат	F-значение	Р-значение	Досто- верно
Модель	0,028	1	0,028	6,88	0,0394	
С- содержание хлорида	0,028	1	0,028	6,88	0,0394	
Остальное	0,024	6	4,013E-003			
Скорректи- рованная общая сумма квадратов	0,052	7				

Таблица 5
Анализ ANOVA - CDP (RRT 0,86) через 6 месяцев, 25°C
ANOVA для выбранной факториальной модели
Анализ таблицы переменных [частичная сумма квадратов - тип III]

Источник	Сумма квадратов	df	Средний квадрат	F-значение	Р-значение	Досто- верно
Модель	4,81	3	1,60	14,42	0,0130	
В- содержание	2,05	1	2,05	18,43	0,0127	
Воды						
С- содержание	2,05	1	2,05	18,43	0,0127	
хлорида						
ВС	0,71	1	0,71	6,42	0,0644	
Остальное	0,45	4	0,11			
Скорректи- рованная общая сумма квадратов	5,26	7				

Пример 3. Эффект гидрохлористой и лимонной кислот на хлоргидриновый продукт деградации.

С целью определения влияния использования хлористоводородной кислоты в способе комплексообразования проводили исследования путем сравнения уровня загрязнения продуктом деградации (CDP) за время хранения с уровнем CDP в партии, полученной без HCl и хранящейся в течение такого же периода времени. При получении pH всех партий подвели в конце процесса до 3,5, используя гидроксид натрия.

Как представлено в табл. 6, партии, полученные с добавлением HCl (2, 3 и 4), показывали явное образование хлоргидринового продукта деградации (CDP) за время хранения, хотя при рекомендованной температуре хранения 5°C, CDP в основном был ниже уровня детекции с помощью ВЭЖХ (0,1%) или не детектировался (ND) в партиях 1 и 5 (в которых не использовали HCl). Очевидно, что более высокое содержание хлорида от HCl в качестве кислоты для инициации процесса приводило к более высоким (и неприемлемым) уровням образования CDP. Поэтому использование только более слабой лимонной кислоты для инициации комплексообразования в SBECD минимизировало образование CDP.

Таблица 6
Результаты по образованию CDP (площадь, %) при 5 и 25°C

	Партия 1		Партия 2		Партия 3		Партия 4		Партия 1	
Время (м-сящи)	лимонная кислота (без HCl)	лимонная кислота (без HCl)	Гидрохлористая кислота	Гидрохлористая кислота	Гидрохлористая кислота	Гидрохлористая кислота	Гидрохлористая кислота	Гидрохлористая кислота	лимонная кислота (без HCl)	лимонная кислота (без HCl)
	5°C	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C
0	≤0,1	определено	0,16	0,16	0,26	0,26	0,15	0,15	≤0,1	≤0,1
3	≤0,1	0,13	0,24	0,78	0,36	1,4	0,19	0,78	≤0,1	0,19
6	≤0,1	≤0,1	0,26	1,1	0,37	1,9	0,22	1,1	≤0,1	0,31
12	≤0,1	-	0,24		0,46	-	0,25	-	≤0,1	-
18	≤0,1	-	0,35		0,52	-	0,29	-	≤0,1	-
24	≤0,1	-	0,33		0,64	-	0,32	-	0,12	-

Пример 4.

Зависимость растворимости карфилзомиба от концентрации циклодекстрина SBECD была определена в водных растворах, содержащих лимонную кислоту (30 мМ), при pH 1,5 и 3,5 и температуре, включающей 5 и 25°C. Профиль растворимости показан на фиг. 6. Не наблюдалось никакой значимой разницы в растворимости между протестированными низкой и высокой температурами. Эксперименты проводились в кислых условиях ниже целевых значений pH и оттитрованных до pH 1,5 или 3,5 с использованием водного раствора гидроксида натрия. Измерениями концентрации солюбилизованного соединения являлись измерения образцов через 24-часовой период, необходимый для установления равновесия.

Пример 5.

Индексирующий подход был использован для моделирования и определения необычного комплексобразующего соотношения циклодекстрина ("CD") и карфилзомиба ("CFZ").

1. Исследование фазовой растворимости.

SBE-β-CD растворяли в WFI для достижения различных концентраций CD (%).

Избыток твердого CFZ-API добавляли в раствор SBE-β-CD и гомогенизировали в течение 1 ч с помощью зондовой мешалки с высоким усилием сдвига для диспергирования агломератов API до их последующего растворения.

pH суспензии снижали с помощью кислоты, чтобы инициировать солюбилизацию и, таким образом, комплексобразование. Дополнительное перемешивание с использованием лопастной мешалки продолжали до 48 ч. pH доводили до pH 3,5 с помощью водного раствора NaOH.

Общее количество растворенного CFZ как функцию от концентрации SBE-β-CD определяли с помощью отбора образцов, фильтрации и ВЭЖХ-анализа.

2. Исследование получения препарата.

SBE-β-CD растворяли в WFI до достижения 25% (мас./об.) раствора. Суспензию CFZ-API в растворе SBE-β-CD получали путем гомогенизации в исследовании растворимости.

Твердый API добавляли во всех экспериментах до теоретического выхода ~6 мг/мл конечного раствора, чтобы имитировать коммерческий процесс.

После гомогенизации pH снижали с помощью лимонной кислоты, чтобы повлиять на растворение, продолжая перемешивание до 24 ч. Затем все препараты доводили до pH 3,5. Концентрации растворенного вещества в виде функции от времени измеряли с помощью отбора образцов, фильтрации и последующего ВЭЖХ-анализа для мониторинга кинетики образования комплекса в способе на основе взвеси.

3. Результаты (исследования фазовой растворимости).

Диаграмма фазовой растворимости (фиг. 7) показывает, что растворимость CFZ в воде увеличивается в зависимости от концентрации SBE-β-CD. Вогнутый профиль фазовой растворимости может классифицироваться как Ап-тип комплексобразования. Начало с низкого pH значительно увеличивает растворимость, тогда как температура имеет незначительный эффект.

4. Результаты (исследования получения препарата).

На фиг. 8 показаны данные по солюбилизации CFZ во время приготовления смеси в зависимости от времени при значениях pH 1,5 и 3 (при 5°C), а также для 5% этанола.

Очень быстрая солюбилизация наблюдалась, когда получение препарата начиналось с наименьшего pH.

Солюбилизация во время получения препарата и при pH 3 показывала аналогичную быструю исходную скорость, которая затем заметно замедлялась и не достигала равновесия за 24 ч.

Добавление этанола при pH 3 не влияло на солюбилизацию, указывая на то, что мицеллообразова-

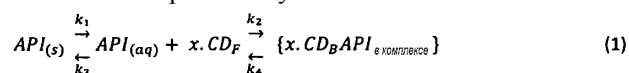
ние вряд ли является скоростьюлимитирующей стадией для этой системы.

5. Выбор модели и интерпретация.

Модель растворения первого порядка ("The approach to solubility equilibrium in crystallizing and dissolving systems." Dalziel, S.M.; White, E.T. & Johns, M.R. 2002 Dev. Chem. Eng. Mineral Process 10(5/6) 521-537) плохо подходила к исходным данным, указывая на то, что скорость общей солюбилизации в значительной степени определяется более медленным механизмом, чем растворение.

Посчитали маловероятным, что мицеллярные промежуточные состояния определяют скорость, поскольку эксперименты по комплексообразованию в 5%-м водном растворе этанола существенно не отличались по общей скорости.

Применили закон действующих масс в соответствии с уравнением (1) с равновесным состоянием, описываемым уравнением (3). Таким образом, движущая сила комплексообразования в нерастворенном ограничивающем состоянии (уравнение 4) является величиной, на которую система удалена от равновесия, и общая кинетическая скорость становится пропорциональной свободному циклодекстрину в степени x , который соответствует его стехиометрическому соотношению с API в комплексе



$$CD_T = CD_F + CD_B \quad (2a)$$

$$C_T = API_{(раствор)} + API_{(в комплексе)} \quad (2b)$$

$$K_{stab} = \frac{[x \cdot CD_B API_{\text{в комплексе}}]^1}{[API_{(aq)}]^1 [CD_F]^x} \quad (3)$$

$$\text{Движущая сила комплексообразования} = (K_{stab} - K_t) \quad (4)$$

Если растворение не является лимитирующим скорость, собственная растворимость является низкой и нет других промежуточных состояний, то скорость комплексообразования $= (k_2 - k_4)$

$$C_T \propto [CD_F]^x \quad (5)$$

С граничным условием $CD_T=0$, C_T =собственная растворимость CFZ при данных pH и температуре.

Построение C_T по Y-оси и CD_F по X-оси в молярных единицах должно сходиться к линейной зависимости, если X-ось трансформируется в степени $1/x$. Решение для X дает стехиометрию комплексообразования.

$API_{(s)}$ - твердая фаза активного фармацевтического ингредиента.

$API_{(aq)}$ - растворенная фаза активного фармацевтического ингредиента.

CD_F - свободный циклодекстрин (не в комплексе).

CD_B - связанный циклодекстрин (в комплексе).

CD_T - общий циклодекстрин.

x - стехиометрический коэффициент.

k_n - константы скорости реакции.

K_{stab} - константа устойчивости равновесия комплексообразования.

K_t - координата и время t реакции комплексообразования.

Экспериментальные данные и моделирование.

Временные данные для наблюдаемой концентрации API для различных условий, таких как % CD, pH, скорость перемешивания, температура.

Набор координат для CD_T и растворенного API (общего: растворенного и в комплексе).

6. Преобразование экспериментальных данных.

Концентрации циклодекстрина и наблюдаемые концентрации карфилзомиба были преобразованы в молярные единицы.

Собственная растворимость карфилзомиба была низкой и оставалась в качестве постоянной в анализе, а не корректировалась в связи с ограничениями точности (уравнение 2b).

Концентрации свободного и связанного циклодекстрина были рассчитаны из уравнения (2a), предполагая несколько сценариев стехиометрии комплексообразования ($x:1$).

Был получен график, отражающий наблюдаемую солюбилизацию в зависимости от свободного циклодекстрина (CD_F), индексированного по величине, обратной его стехиометрии комплексообразования ($1/x$). Преобразованные данные оценивали, чтобы показать, где график приближается к линейности (за исключением величины собственной растворимости). Это было приблизительно при $x=2-3$ (см. фиг. 9).

7. Выводы.

Растворимость CFZ в воде увеличивается в зависимости от концентрации SBE- β -CD. Профиль фазовой растворимости может быть классифицирован как An-тип.

Для CFZ с SBE- β -CD наблюдалось стехиометрическое соотношение из 2 или 3 циклодекстринов на молекулу API в комплексе.

Плохое соответствие полученным данным модели растворимости первого порядка и отсутствие

значительных изменений в наблюдаемой скорости комплексообразования в водном растворе этанола (Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. Messner M., Jansook P., Kurkov S.V. and Loftsson Int J Pharm. 2010 Mar 15; 387(1-2): 199-208) позволили предположить, что ни растворение, ни мицеллообразование не являются лимитирующими стадиями. Скорее всего, общая скорость процесса определяется скоростью комплексообразования (k_2). Это означает, что физические свойства API, такие как размер частиц и площадь поверхности, а также технологические параметров, таких как тип и работа смесителя (которые влияют на k_1), могут быть не критичными для производительности и надежности способа. Исследования параметров и валидация промышленного способа подтвердили это.

Экспоненциальная зависимость скорости комплексообразования от свободной концентрации циклодекстрина в степени стехиометрического показателя коррелирует с наблюдаемым кинетическим поведением: первоначально быстрое растворение ($0 \rightarrow 4,5$ мг/мл за первые 2 ч), затем очень медленное до равновесия ($4,5 \rightarrow 5,5$ мг/мл за следующие 20 ч и больше).

Другие варианты осуществления изобретения.

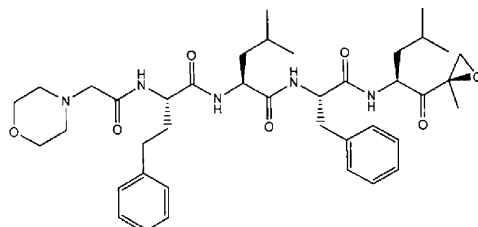
Следует понимать, что хотя изобретение следует рассматривать вместе с его подробным описанием, предшествующее описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема изобретения, которое определено объемом приложенной формулы. Другие аспекты, преимущества и модификации входят в объем приложенной формулы.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения фармацевтической композиции, включающий следующие стадии:

(i) смешивание:

(a) соединения



или его фармацевтически приемлемой соли;

(b) циклодекстрина, содержащего менее чем 0,05% мас./мас. хлоридной соли (циклодекстрин с низким содержанием хлорида); и

(c) воды

для получения первой комбинации, которая является гетерогенной;

(ii) приведение в контакт первой комбинации с органической кислотой для получения второй комбинации;

(iii) перемешивание второй комбинации для получения гомогенной третьей комбинации;

(iv) стерильное фильтрование третьей комбинации и лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата.

2. Способ по п.1, где первая комбинация, по существу, свободна от органического растворителя или буфера.

3. Способ по п.1, где первая комбинация имеет pH от 4 до 7.

4. Способ по любому из пп.1-3, где вторая комбинация содержит комплекс соединения и циклодекстрина.

5. Способ по любому из пп.1-4, где циклодекстрин с низким содержанием хлорида представляет собой бета-циклодекстрин, выбранный из гидроксипропил-бета-циклодекстрина (HPBCD) и сульфобутилового простого эфира бета-циклодекстрина (SBECD).

6. Способ по п.1, где молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации не превышает 0,32.

7. Способ по п.1, где получение первой комбинации (стадия (i)) включает в себя добавление соединения или его фармацевтически приемлемой соли к раствору циклодекстрина с низким содержанием хлорида и воды.

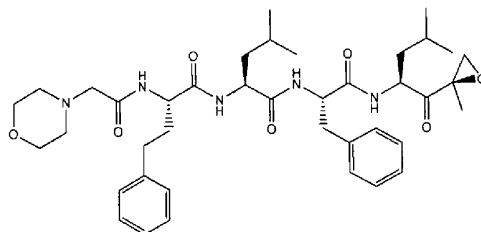
8. Способ по п.7, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль является кристаллическим твердым веществом.

9. Способ по п.8, где кристаллическая форма соединения имеет порошковую рентгенограмму, содержащую от 2 до 8 характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ при 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 и 23,30.

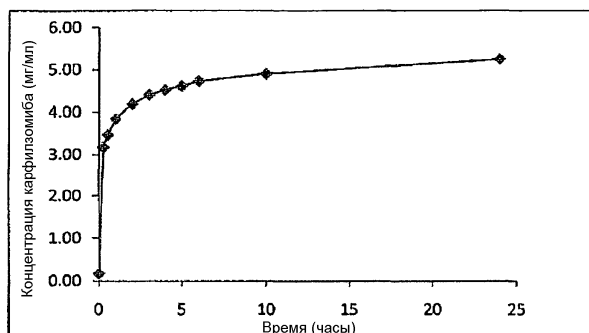
10. Способ по любому из пп.1-9, где до приведения в контакт первой комбинации с органической кислотой (стадия (ii)) первую комбинацию дополнительно перемешивают.

11. Способ по п.1, где стадии (i) и (ii) обе проводят в одном сосуде.

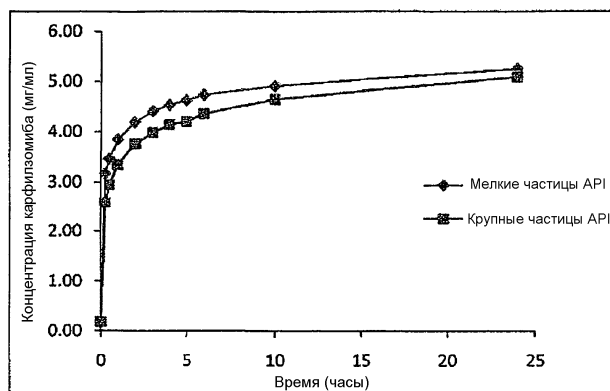
12. Способ по п.1, где концентрация соединения в третьей комбинации составляет от 1 до 20 мг/мл.
 13. Способ по п.1, где pH третьей комбинации составляет от 2 до 4.
 14. Способ по п.1, который дополнительно включает смешивание лиофилизата со стерильной водой для инъекций для получения раствора для инъекций.
 15. Способ по п.1, который дополнительно включает смешивание лиофилизата с лимонной кислотой.
 16. Способ получения фармацевтической композиции, включающий:
 (i) смешивание:
 (a) соединения



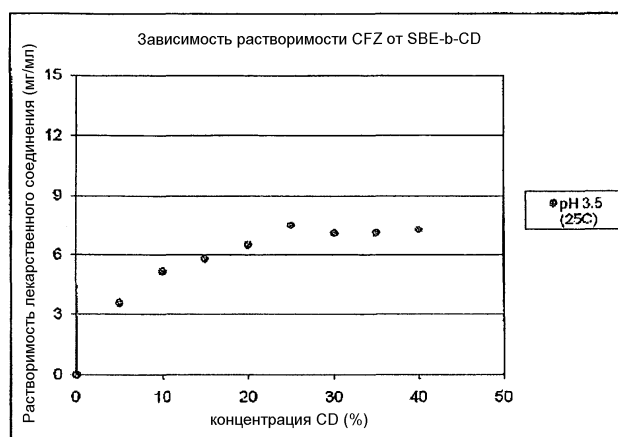
- или его фармацевтически приемлемой соли;
 (b) сульфобутилового простого эфира бета-циклодекстрина, содержащего менее чем 0,05% мас./мас. хлоридной соли (SBECD с низким содержанием хлорида); и
 (c) воды для инъекций
 для получения первой комбинации, которая является гетерогенной;
 (ii) смешивание первой комбинации с водным раствором лимонной кислоты для получения второй комбинации;
 (iii) перемешивание второй комбинации для получения гомогенной третьей комбинации и
 (iv) лиофилизацию третьей комбинации для получения лиофилизата.
 17. Способ по п.16, где первая комбинация, по существу, свободна от органического растворителя или буфера.
 18. Способ по п.16, где первая комбинация имеет pH от 4 до 7.
 19. Способ по п.16, где вторая комбинация содержит комплекс соединения и SBECD с низким содержанием хлорида.
 20. Способ по п.16, где молярное соотношение хлорид-иона и соединения в первой комбинации не превышает 0,32.
 21. Способ по п.16, где получение первой комбинации (стадия (i)) включает добавление соединения к раствору SBECD с низким содержанием хлорида и воды.
 22. Способ по п.21, где соединение или его фармацевтически приемлемая соль является кристаллическим твердым веществом.
 23. Способ по п.22, где кристаллическая форма соединения имеет порошковую рентгенограмму, содержащую от 2 до 8 характеристических пиков, выраженных в градусах 2θ при 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 и 23,30.
 24. Способ по п.16, где до смешивания первой комбинации с лимонной кислотой (стадия (ii)) первую комбинацию дополнительно перемешивают.
 25. Способ по п.16, где стадии (i) и (ii), обе, проводят в одном сосуде.
 26. Способ по п.16, где концентрация соединения в третьей комбинации составляет от 1 до 20 мг/мл.
 27. Способ по п.26, где pH третьей комбинации составляет от 2 до 4.
 28. Способ по п.16, который дополнительно включает смешивание лиофилизата со стерильной водой для инъекций для получения раствора для инъекций.
 29. Лиофилизированная фармацевтическая композиция, полученная способом по п.16, для лечения множественной миеломы.
 30. Раствор для инъекций, полученный способом по п.28, для лечения множественной миеломы.



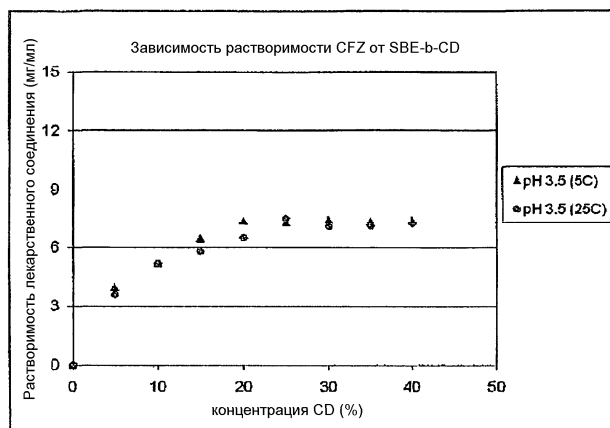
Фиг. 1



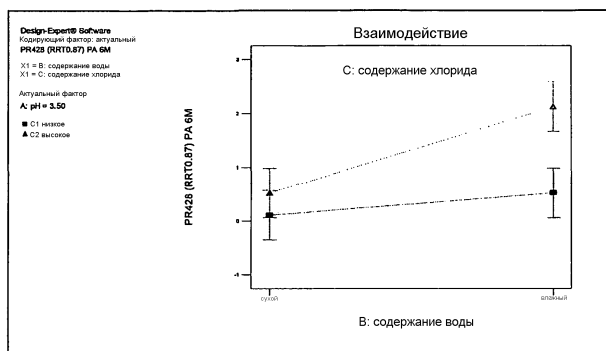
Фиг. 2



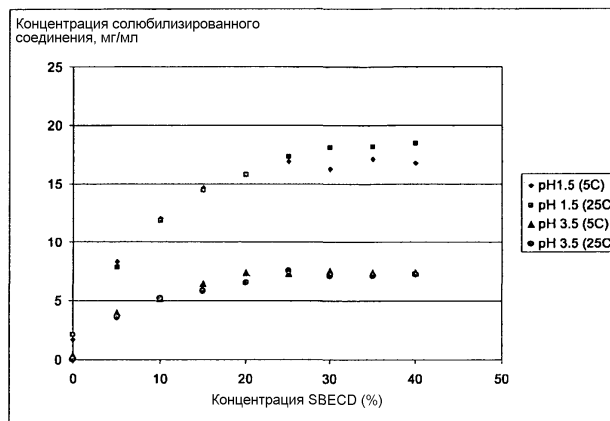
Фиг. 3



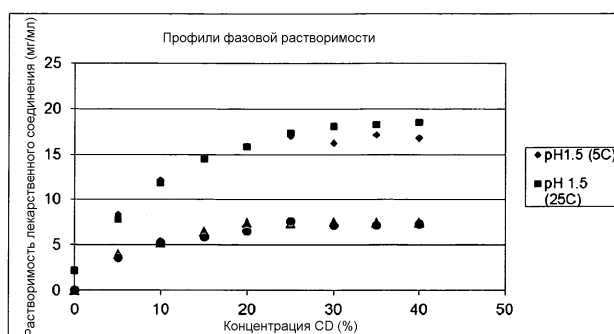
Фиг. 4



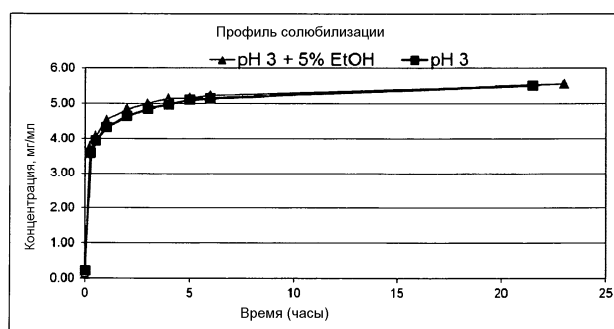
Фиг. 5



Фиг. 6

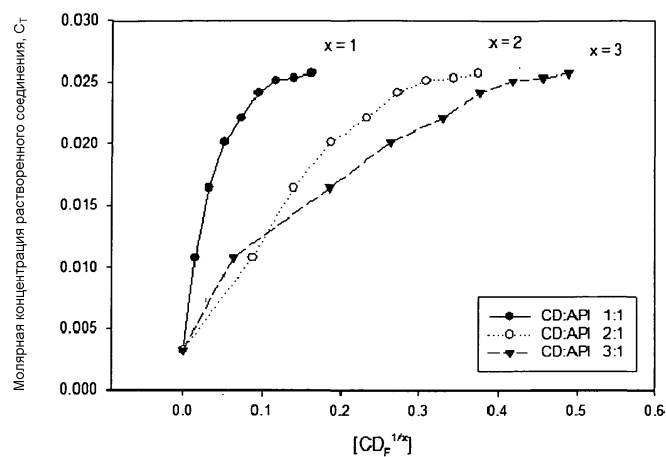


Фиг. 7



Фиг. 8

Молярная концентрация солюбилизированного карфилзомиба
относительно свободного циклодекстрина,
индексированного по комплексообразованию



Фиг. 9



Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2